THE UNIVERSITY
OF ILLINOIS
LIBRARY

58205
CE
~~Ser.2a~~, v.92

NATURAL
HISTORY BIOLOGY

Return this book on or before the *Latest Date* stamped below. A charge is made on all overdue books.

U. of I. Library

MAR 27 1939

JUL 22 1946

DEC 26 1947

JUL 6 1967

14685-S

CENTRALBLATT

für

Bakteriologie, Parasitenkunde und Infektionskrankheiten

In Verbindung mit

Prof. Dr. R. Abel, Geh. Obermed.-Rat in Jena
Prof. Dr. M. Braun, Geh. Reg.-Rat in Königsberg
Prof. Dr. R. Pfeiffer, Geh. Med.-Rat in Breslau

herausgegeben von

Prof. Dr. O. Uhlworm, Geh. Reg.-Rat in Bamberg
Präsident Dr. A. Weber in Dresden
und
Prof. Dr. E. Gildemeister, Ober-Reg.-Rat, Berlin-Lichterfelde-W.

Erste Abteilung. 92. Band

Medizinisch-hygienische Bakteriologie und tierische Parasitenkunde

Originale

Mit 89 Abbildungen im Text und 2 Tafeln

Jena
Verlag von Gustav Fischer
1924

Centralbl. f. Bakt. etc. I. Abt. Originale. Bd. 92. Heft 1/2.

589.05
C E

Ausgegeben am 16. Juni 1924.

V. 92

Nachdruck verboten.

Ueber Variationserscheinungen in der Typhus-Coli-Gruppe.

[Aus dem Hygienischen Institut der Med. Akademie Düsseldorf.]

Von Dr. **P. Engering.**

Im folgenden soll über einige merkwürdige Beobachtungen berichtet werden, welche das kulturelle und serologische Verhalten einiger Stämme der Typhus-Coli-Gruppe betreffen. Trotz der endlosen Zahl der Veröffentlichungen gerade auf diesem Gebiete dürften die folgenden Ausführungen eines gewissen Interesses nicht entbehren.

Anlaß zu diesen Untersuchungen bot die am 11. 4. 23 erfolgte Einlieferung eines Falles P. G., 21 Jahre alt, in die Med. Klinik, bei welchem die Diagnose Typhus oder Paratyphus nicht feststand. Auf Veranlassung des Kreisarztes wurden alle Familienangehörigen (8 Personen) ebenfalls bakteriologisch untersucht.

Nach Angabe des Kreisarztes sollte die Familie nicht ganz durchgebratenes Hackfleisch genossen haben, wonach einige Familienmitglieder sich nicht wohl gefühlt haben sollen. Ganz eindeutig waren diese Angaben der Familie aber nicht. Sie haben, wie wir zeigen werden, auch sicher keine Bedeutung.

Die Anamnese ergab nun die wichtige Tatsache, daß die Mutter des P. G. und sein Bruder N. vor ca. 2 Jahren lange Zeit auf der Typhusstation behandelt worden waren, und zwar die Mutter 88 Tage, der Bruder 55 Tage lang. Der Fall des Bruders N., der damals zuerst erkrankte, ist nach vorliegender Krankengeschichte und Fieberkurve als leichter, der Fall der Mutter dagegen als schwerer Typhusfall (10 Wochen hohes Fieber) zu beurteilen.

Auffallenderweise war bei N. dreimalige Blutkultur und dreimalige Stuhluntersuchung negativ gewesen. Widal ca. am 28. Krankheitstage Typhus 100 + grobflockig, 200 —, Paratyphus B 50 —, am 34. Krankheitstage Typhus 400 + grobflockig, 800 —; Paratyphus 100 +. Auch bei der Mutter war Blutkultur negativ verlaufen, dagegen fanden sich am 26. Krankheitstage echte Typhusbazillen im Urin und am 45. Krankheitstage im Eiter eines Abszesses an der Beugeseite des linken Oberschenkels ebenfalls echte Typhusbazillen. Trotz des negativen bakteriologischen Nachweises ist man auf Grund des klinischen Verlaufes und des genannten serologischen Befundes wohl berechtigt, auch bei dem Bruder N. einen echten Typhus anzunehmen.

Die wichtigsten Daten aus der Krankengeschichte des P. G. sind folgende: Bei der Aufnahme Temp. 40°, Puls 112. Auf Brust und Bauch kleinlinsengroße, wegdrückbare Roseolen. Untere Lungenpartien feinblasige Rasselgeräusche. Lippen trocken, rissig. Zunge weißgelb belegt, Leib etwas aufgetrieben, Milz deutlich palpabel. Keine Durchfälle. Diazo +. Nach 30 Tagen Roseolen an Bauch, Brust und Armen sehr reichlich. Geringe Fiebersenkung nach 8 Tagen, Entfieberung 3 Wochen nach der Aufnahme. Während der ganzen Zeit Obstipation. Auf Behandlung nach 4 Wochen regelmäßiger Stuhl 1mal täglich. 10 Wochen nach der Aufnahme geheilt, entlassen.

Blutkultur am 4. und 15. Tage nach der Aufnahme negativ.

	am 4. Tage	5. Tage	23. Tage	50. Tage nach d Aufnahme
Widal Typhus:	400 grobfl.	400 grobfl.	800 grobfl.	1600 grobfl.
Paratyphus B:	100 „	400 „	400 „	200 „

Stuhl und Urinuntersuchung am 2., 15., 27., 30. und 45. Tage nach der Aufnahme negativ.

572109

Am 50. Tage nach der Aufnahme fanden sich im Stuhle unbewegliche, gramnegative Bazillen mit folgenden kulturellen Eigenschaften: Agarplatte: üppige Kolonie, Andeutung von Weinblattzeichnung. Zentrum gewölbt und fein granuliert, leicht geschwellter Rand. Gelatineplatte: gelblich-graue Kolonie, weinblattförmige Ausläufer. Gelatinestich: keine Verflüssigung. Blutplatte: keine Hämolyse. Drigalski-Platte: blau, durchsichtig. Endo-Platte: kein Fuchsinglanz. Malachitgrünplatte: gelb-weißliche durchsichtige Kolonie. Kartoffel: gleichmäßiger weißer Belag. 2 Proz. Raffinoseagar: fast kreisrunde Kolonie mit gewellten, hellem Rand. Zentrum gewölbt und fein granuliert, Schleimwallbildung nach 2 Tagen deutlich. Bouillon: gleichmäßige Trübung. Lakmusmolke: nach 24 Std. gleichmäßige Rötung und Trübung, beginnende Häutchenbildung, nach 5 Tagen kein Umschlag. Milch: nach 24 Std. und 10 Tagen unverändert. — Eine Prüfung desselben Stammes nach 8 Monaten ergab in Milch: nach 6 Tagen Gerinnung. Bei der weiteren Fortzüchtung — wobei namentlich die Frage geprüft wurde, ob es sich nicht um eine Mischkultur handelte, was aber nicht bewiesen werden konnte — zeigte sich nach 4 Monaten Knopfbildung mit Variation. Es konnte eine auf Drigalski blau und rot wachsende Variante abgespalten werden. Die Abspaltung aus der blauen Variante in blaue und rote Tochtergeneration gelang immer wieder mit Regelmäßigkeit, während aus der roten Variante niemals eine blaue wieder gewonnen werden konnte. Agglutinatorisch waren beide Varianten gleich. Das serologische Verhalten zeigt folgende Tabelle:

Stamm P. G. wird agglutiniert durch[1])

Datum	Ty.-Ser. (Tit. 16000)	Paraty. B-Serum (Titer 6400)	Paraty. Breslau (Titer 3200)	Paraty. Erzindjan (Titer 12 800)	Gärtner-Serum (Titer 16 000)	Ser. Frau A) (Titer 12 800)
9. 5. 23	800 f.	200 f.	100 f.	3200 m.	200 m.	200 f.
12. 6. 23	400 f.	400 f.	100 f.	1600 m.	200 m.	200 f.
11. 7. 23	400 m.	400 f.	100 f.	800 m.	200 m.	200 f.
19. 10. 23	200 f.	400 g.	0	800 g	100 f.	100 f.

Das Serum des P. G. agglutinierte diesen Stamm 800 grobfl. Der Castellanische Absättigungsversuch zeigt folgendes Ergebnis: Aus Ty.- und Para B-Serum werden am 15. 5. 23 alle Agglutinine gebunden. Bei einer Prüfung 4 Monate später wurden dagegen Typhusagglutinine teilweise, Para B-Agglutinine gar nicht mehr entfernt.

Wir stehen also vor folgender Tatsache: Aus dem Stuhl eines Patienten, bei dem die klinische Diagnose Typhus oder Paratyphus nicht feststeht, werden Bazillen gezüchtet, welche mit der Typhus-Paratyphusgruppe kulturelle und serologische Verwandtschaft aufweisen, aber unbeweglich sind und im Verlaufe der Züchtung zwei Varianten abspalten, welche sich agglutinatorisch als identisch erweisen. Auffallend ist der verschiedene Ausfall der Agglutination zu verschiedenen Zeiten, und die hohen Werte der Agglutination in Erzindjan-Serum. Sämtliche Sera waren von uns mit einwandfreien Kulturen hergestellt. Stamm Paraty. Breslau verdanken wir der Liebenswürdig-

1) f = feinflockig m = mittelflockig; g = grobflockig.

keit des Hyg. Instituts Breslau, Erdzindjan und Gärtner derjenigen des Reichsgesundheitsamtes.

Ob der gefundene Stamm ätiologisch mit der Krankheit etwas zu tun hat, ist schwer zu entscheiden, da die Züchtung sowohl dieses Stammes als anderer Stämme aus der Ty. Paraty.-Gruppe aus dem Blute nicht gelang. Leider unterblieben auch öftere Stuhl- und Urinuntersuchungen in der letzten Zeit des Krankheitsaufenthaltes.

Der Verlauf der Widal-Kurve spricht anderseits sehr für Typhus. Auf diese Frage soll aber erst später eingegangen werden.

Die Resultate der Umgebungsuntersuchung müssen in 2 Teilen besprochen werden: 1) der Befund bei der Mutter des P. G.; 2) bei den übrigen Mitgliedern der Familie.

Bei der Mutter fanden sich am 5. 5. im Stuhl unbewegliche (mehrfache Prüfung im Dunkelfeld und Färbung ergab niemals Geißeln) gramnegative Bazillen mit folgenden kulturellen Eigenschaften:

Agarplatte: Kolonie durchsichtig wie Typhuskolonie, Andeutung von Weinblattzeichnung, Zentrum gewölbt und fein granuliert, Rand leicht gewellt. Gelatineplatte desgleichen. Gelatinestich: keine Verflüssigung. Endo-Platte: kein Fuchsinglanz, weiße Kolonie. Drigalski: glasige, durchsichtige, blaue Kolonie. Malachitgrünplatte: helle weiße Kolonie. Blutplatte: keine Hämolyse. 2-proz. Raffinose-Agarplatte: helle Randzone, Zentrum gewölbt und gekörnt. Schleimwallbildung nach 5 Tagen. Kartoffel: gleichmäßiger weißer Belag. Bouillon: gleichmäßige Trübung. Lackmusmolke: nach 24 Std. Rötung, nach 7 Tagen kein Umschlag nach Alkali. Milch: nach 24 Std. unverändert, nach 10 Tagen Gerinnung. Eine Prüfung desselben Stammes nach 8 Monaten ergab: Lackmusmolke: Umschlag nach Alkali nach 4 Tagen. Milch: nach 14 Tagen unverändert. Traubenzuckerbouillon und Agar: Gasbildung. Lackmus-Mannit: Rötung, Lackmus-Maltose: Rötung, Lackmus-Saccharose unverändert. Indolbildung: nach 24 Std. sehr schwach. Ueber das serologische Verhalten gibt folgende Tabelle ein Bild.

Agglutination des Stammes M. G. in folgenden Sera:

Datum	Ty.-Ser. (Tit. 16000)	Paraty. B-Serum (Titer 6400)	Paraty. Breslau (Titer 3200)	Paraty. Erzindjan (Titer 12 800)	Gärtner-Serum (Titer 16 000)	Homol. Ser. (Titer 12 800)
9. 5. 23	800 g	800 g	0	0	6400 f.	12 800 g
12. 6. 23	800 g	400 g	100 f.	3200 g	1200 f.	6 400 g
11. 7. 23	12 800 g	0	100 f.	3200 g	400 g	6 400 g
19. 10. 23	800 g	200 mf.	400 g	1600 g	400 g	6 400 g

Angesichts des merkwürdigen serologischen Verhaltens wurde besonders und immer wieder untersucht, ob es sich nicht doch um eine Mischkultur handelte. Bei Verdünnungsausstrichen auf Platten und Abimpfen möglichst vieler Kolonien konnten aber niemals Kulturen von anderen kulturellen oder serologischen Verhalten gewonnen werden. Namentlich das Gasbildungsvermögen in Traubenzucker bestand in der ersten Zeit in unveränderter Stärke fort. Nach weiteren 5 Tagen war es ganz verschwunden, und gleichzeitig war eine echte Beweglichkeit aufgetreten. Im Castellanischen Absättigungsversuch hatte der Stamm 4 Tage

nach der Reinzüchtung weder Typhus- noch Para B-Agglutinine gebunden. Nach dem Auftreten der oben beschriebenen kulturellen Eigenschaften band der Stamm dagegen Typhusagglutinine glatt, Para B-Agglutinine aber nicht. Umgekehrt ergab die Ab-Beweglichkeit aufgetreten. Im Castellanischen Absättigungsversuch hatte der Stamm 4 Tage nach der Reinzüchtung weder Typhus- noch Para B-Agglutinine gebunden. Nach dem Auftreten der oben beschriebenen kulturellen Eigenschaften band der Stamm dagegen Typhusagglutinine glatt, Para B-Agglutinine aber nicht. Umgekehrt ergab die Absättigung des mit dem Stamm hergestellten Immunserums mit Typhusbazillen und Titrierung mit Stamm Mutter G. keine Agglutination, während die Absättigung mit Para B-Bazillen eine geringere Agglutination mit Stamm Mutter G. ergab.

Auffallend blieb in späterer Zeit 1) die relativ geringe Agglutinabilität des Stammes in Typhusserum, 2) die hohe relative Beeinflussung durch Erzindjan-Serum. Da in der späteren Zeit auch die Gerinnung in Milch vollkommen ausblieb, steht nichts im Wege, den Stamm als echten Typhus zu bezeichnen, welcher zum Teil auffallend hohe Agglutinabilität in Immunsera der Paratyphus-Erzindjan-Gruppe besitzt.

Analog den Untersuchungen von Theobald Smith und von Jeney, die über das veränderte resp. gehemmte Gasbildungsvermögen von Coli-Stämmen in Symbiose mit Typhus- und Paratyphusstämmen berichteten, brachten wir in Gärungskölbchen einmal den Mutter G.-,

Tabelle

Bezeichnung der Stämme	Agarplatte	Gelatineplatte	2-proz. Raffinoseplatte
1. Kind N.	Ueppiges Wachstum, fast kreisrunde Kolonie mit etwas gezacktem Rand. Zentrum dunkel granul.	Andeutung von Weinblattzeichnung, homogene Kolonie, fein granuliert	Kreisrunde, homogene Kolonie. Schleimwallbildung nach 5 Tagen, keine Knopfbildung
2. Kind A.	Gelappte Kolon. mit durchsichtigem Rand. Zentrum gewölbt, nur wenig granuliert	Hellbraune, homogene Kolonie und Weinblattzeichnung	Kreisrunde, homogene Kolonie. Schleimwallbildung nach 2 Tagen, keine Knopfbildung
3. Kind L.	Kolonie m. stark gelapptem Rand, helle Randzone, Zentrum gewölbt und fein granuliert	Polygonale u. rundliche Kolonien mit glattem Rand. Zentrum fein granuliert	Fast kreisrunde, homogene Kolonie, Schleimwallbildung nach 3 Tagen, keine Knopfbildung
4. Kind Gr.	Fast kreisrunde Kolonie mit glattem Rand	Kreisrunde Kolonien mit glattem Rand, gleichmäßig granuliert	Kreisrunde Kol. mit dunklem Zentrum. Schleimwallbildung nach 3 Tag., keine Knopfbildung
5. Kind M.	Fast kreisrunde Kolonie von schmutzig grauem Farbenton	Fast kreisrunde, homogene Kolonie mit glattem Rand	Kreisrunde, gleichmäßige homogene Kol. Schleimwallbildung nach 2 Tag., keine Knopfbildung
6. Kind J.	Gelappte Kolonie mit peripherer Wellenzeichnung, Zentrum feinkörnig	Helle homogene Kolonie, Weinblattzeichnung mit glattem Rand	Deutliche Schleimwallbildung nach 24 Std.

Bei allen Stämmen in Traubenzuckeragar und Traubenzuckerbouillon Gasbildung. Gelatinestich: keine Verflüssigung.

einmal einen echten Typhusstamm mit einem gut gasbildenden Coli-Stamm zusammen.

Das Ergebnis zeigt folgende Tabelle:

Gasbildung nach	Typhus und Coli	M. G. + Coli	Kontrolle
24 Std.	keine Gasbildung	keine Gasbildung	3 Teilstriche
48 „	1 Teilstrich	3½ Teilstriche	7 „
72 „	2½ Teilstriche	7 „	10 „
96 „	4 „	10½ „	14 „

Man sieht also, daß der M. G.-Stamm sich von dem von uns verwandten Typhusstamm etwas abweichend verhält. Ob man auf Grund dieses Versuchs den M. G.-Stamm nicht als Typhus bezeichnen kann, erscheint uns doch sehr fraglich, zumal da von Jeney große Verschiedenheiten unter den Typhusstämmen, je nach dem Alter der Kultur, fand.

Selbstverständlich bleibt immer der Einwand bestehen, daß der ursprüngliche Stamm doch eine Mischkultur dargestellt hat, daß eine Trennung in die einzelnen Komponenten stattfand, ohne daß eine Unterscheidung der Kolonien möglich war. Dagegen könnte sprechen: 1) daß eine Prüfung möglichst vieler Kolonien von der Verdünnungsplatte niemals einen Anhalt dafür bot; 2) die Tatsache, daß der Verlust der Gasbildung im Verlauf einiger Tage auftrat; 3) die Tatsache, daß bei einer Symbiose von echten Typhusbazillen einerseits, und Para B- oder Para-Coli-Bazillen anderseits eher die Typhusbazillen im Ver-

I.

Kartoffel	Milch	Lackmusmolke	Indol
Gleichmäßig wachsender weißer Belag	Nach 24 Std. unverändert, nach 10 Tagen Gerinnung	Nach 24 Std. gleichmäßige Rötung, leichte Trübung; nach 5 Tagen Umschlag nach Alkali	Nach 24 Std. +
dgl.	unverändert	Nach 24 Std. gleichmäßige Rötung und Trübung, nach 5 Tagen Umschlag nach Alkali	Nach 24 Std. schwach +
„	unverändert	Nach 24 Std. gleichmäßige Rötung und Trübung, nach 10 Tagen Umschlag nach Alkali	Nach 24 Std. +
„	unverändert	Nach 24 Std. gleichmäßige Rötung und Trübung, kein Umschlag	Nach 24 Std. +
Schmutzig grauer Belag	Nach 10 Tagen Gerinnung	Nach 24 Std. gleichmäßige Rötung und Trübung, kein Umschlag	Nach 24 Std. schwach +
Gleichmäßig wachsender weißer Belag	unverändert	Nach 24 Std. gleichmäßige Rötung und Trübung, beginnende Häutchenbildung, Umschlag nach Alkali nach 5 Tagen	Nach 24 Std. schwach +

Lackmus-Mannitagar = Rötung, Lackmus-Maltoseagar = Rötung, Lackmus-Saccharoseagar = unverändert.

laufe der Züchtung zugrunde gehen, als umgekehrt. Leider sind alle Versuche, den Stamm durch Symbiose mit Paratyphus- oder Coli-Bazillen in vitro oder im Tierkörper in einen gasbildenden Stamm zurückzuverwandeln, fehlgeschlagen. Da bisher das allmähliche Ausbleiben des Gasbildungsvermögens bei Fortzüchtung schon oft, das umgekehrte Phänomen aber sehr wenig beschrieben wurde (Pringsheim, Hilgers), müssen wir in unserem Falle die Frage offen lassen, ob es sich um eine Variationserscheinung handelt. Wir glauben aber, nach diesen Beobachtungen die Forderung aufstellen zu müssen, daß mehr als bisher auch atypische Kulturen genau weiter verfolgt werden.

Die Umgebungsuntersuchung umfaßte, abgesehen von der oben erwähnten Mutter, den Vater und 6 Kinder, darunter den N. G., welcher vor 2 Jahren Typhus durchgemacht hatte. Während bei dem Vater nichts Auffälliges im Stuhl und Urin zu bemerken war, fanden sich bei den 6 Kindern im Stuhl unbewegliche, gramnegative Bazillen von Coli-Größe, welche auf Drigalski: blau, auf Endo: farblos, auf Malachitplatte: weißlich durchscheinend wuchsen, auf Blutplatte keine Hämolyse zeigten und im übrigen folgende kulturellen Merkmale aufwiesen (Tabelle I):

Schon das kulturelle Verhalten berechtigt nicht, die Stämme als identisch zu beachten. Deutliche Weinblattzeichnungen haben Nr. 2 und 6, Andeutung Nr. 1. Die Intensität der Schleimwallbildung auf Raffinoseagar und der Indolbildung ist nicht gleichmäßig. Das Wachstum auf Kartoffel bei Nr. 5 grau, im Gegensatz zu dem weißen Belag der anderen Stämme, in Lackmusmolke tritt der Umschlag nach Alkali nach 5 Tagen bei Stamm Nr. 1, 2 und 6; nach 10 Tagen bei Nr. 3 auf; er fehlt bei Nr. 4 und 5.

Milch wurde nach 10 Tagen von Nr. 2, 3, 4 und 6 nicht verändert.

Die weitere Züchtung über mehrere Monate brachte nun insofern interessante Ergebnisse, als bei einzelnen Stämmen Unterschiede in den Merkmalen gegen die erste Prüfung zutage trat. So ergab die Prüfung in Lackmusmolke 6 Monate nach der ersten Züchtung:

Umschlag nach

	Alkali jetzt		früher	
Stamm Nr. 1	nach 3 Tagen		nach 5 Tagen	während die anderen Stämme sich genau wie früher verhielten.
„ „ 2	„ 2	„	„ 5	„
„ „ 3	„ 2	„	„ 10	„
„ „ 6	„ 2	„	„ 5	„

Desgleichen die Prüfung in Milch

Stamm Nr. 1		Gerinnung jetzt nach 4 Tagen				früher nach 10 Tagen				
„ „ 3		„	„	„	6	„	„	„	10	„
„ „ 5a		„	„	„	4	„	„	„	10	„
„ „ 5b		„	„	„	6	„	„	„	10	„
„ „ 6		„	„	„	13	„	„	„	unverändert	

Auffallender aber als diese Erscheinungen war das Resultat von Passagen durch Malachitgrünbouillon 0,1:100, 0,2:100 nach dem Verfahren von Revis und Seiffert. Diese Autoren hatten den Verlust des Gasbildungsvermögens aus Traubenzucker bei Coli festgestellt, wenn man ihn längere Zeit (bis zu 22 Passagen) in Malachitgrünbouillon züchtete.

Von unseren Stämmen verlor nach 2 Passagen Stamm Nr. 2 dieses Vermögen vollkommen. Gleichzeitig änderte sich sein serologisches Verhalten und — was das Merkwürdigste war — er wurde lebhaft beweglich, obwohl in der vorausgegangenen Zeit alle Stämme immer wieder nach allen Methoden auf Geißeln und Beweglichkeit geprüft worden waren.

Auch Stamm Nr. 6 zeigte nach 5 Monaten schwache Beweglichkeit und Geißeln, obwohl das Nährsubstrat nicht verändert war.

Eine weitere Variationserscheinung wurde bei dem Stamm Nr. 4 $1^1/_2$ Monate nach der Züchtung beobachtet. Aehnlich wie bei dem oben beschriebenen Stamm aus den Fäzes des P. G. ließ sich auf Drigalski eine rote Variante abspalten, welche agglutinatorisch mit dem blauen Mutter-Stamm identisch war. Eine Abspaltung von blau wachsenden Stämmen von der roten Variante war nicht möglich. Knopfbildung wurde bei diesen Vorgängen nicht beobachtet. Diese Erscheinungen dürften wohl analog dem Verhalten des von Neißer und Massini beschriebenen Coli mutabile sein. Bernhardt und Markhoff vermochten einen Umschlag der roten Variante in die blaue durch Tierpassagen zu erzielen. Dieses gelang uns bei unseren Stämmen nicht, während nach Tierpassagen — intraperitoneale Impfung von Mäusen — und Abimpfung aus dem Exsudat die blaue und rote Variante öfters herausgezüchtet werden konnte. Das wechselnde Verhalten der Stämme

Tabelle II.

Agglutinatorisches Verhalten der Stämme der Familie G.

	Typhus-serum	Paratyphus B-Serum	Paratyphus Breslau	Paratyphus Erzindjan	Gärtner-Serum	v. Stamm Mutter G. Immunser.
1. Kind N.	9. 5. 400 g. 12. 6. 200 g. 12. 7. — 19. 10. 800 f	9. 5. 200 g. 12. 6. 100 g. 11. 7. neg. 19. 10. 800 f.	9. 5. neg. 12. 6. „ 11. 7. „ 19. 10. 400 f.	9. 5. neg. 12. 6. „ 11. 7. „ 19. 10. 200 f.	9. 5. neg. 12. 6. „ 11. 7. „ 19. 10. 400 f.	9. 5. neg. 12. 6. „ 11. 7. „ 19. 10. 100 f.
2. Kind A	9. 5. 6400 f. 12. 6. 800 f. 11. 7. neg. f. 19. 10. „ f.	9. 5. neg. 12. 6. „ 11. 7. „ 19. 10. „	9. 5. neg. 12. 6. „ 11. 7. „ 19. 10. „	9. 5. neg. 12. 6. „ 11. 7. „ 19. 10. „	9. 5. neg. 12. 6. „ 11. 7. „ 19. 10. „	9. 5. 100 f. 12. 6 neg. 11. 7. „ 19. 10. „
3. Kind L.	9. 5. 400 g. 12. 6. 200 f. 11. 7. 200 f. 11. 10. neg.	9. 5. neg. 12. 6. 400 m. 11. 7. 400 m. 19. 10. neg.	9. 5. neg. 12. 6. 400 11. 7. 800 f. 19. 10. neg.	9. 5. 6400 g. 12. 6. 800 m. 11. 7. 800 19. 10. neg.	9. 5. neg. 12. 6. 800 g. 11. 7. 1600 g. 19. 10. neg.	9. 5. neg. 12. 6. 200 f. 11. 7. 400 f. 19. 10. neg.
4. Kind Gr.	9. 5. neg. 12. 6. „ 11. 7. 100 m. 19. 10. neg.	9. 5. neg. 12. 6. „ 11. 7. „ 19. 10. „	9. 5. neg. 12. 6. „ 11. 7. „ 19. 10. „	9. 5. neg. 12. 6. „ 11. 7. „ 19. 10. 800 g.	9. 5. neg. 12. 6. 200 f. 11. 7. 200 f. 19. 10. neg. f.	9. 5. neg. 12. 6. „ 11. 7. 200 f. 19. 10. 100 m.
5. Kind M.	9. 5. 6400 f. 12. 6. 3200 f. 11. 7. 200 f. 19. 10. 200 f.	9. 5. 1600 f. 12. 6. 400 f. 11. 7. 400 f. 19. 10. 400+g.	9. 5. neg. 12. 6. 200 f. 11. 7. 100 f. 19. 10. 200 f.	9. 5. neg. 12. 6. 200 f. 11. 7. 400 f. 19. 10. 200 f.	9. 5. 50 f. 12. 6. 400 m. 11. 7. 800 m. 19. 10. neg.	9. 5. 100 f. 12. 6. 200 f. 11. 7. 200 f. 19. 10. 100 f.
6. Kind J.	9. 5. 400 g. 12. 6. 200 f. 11. 7. 200 f. 19. 10. 200 f.	9. 5. 800 m. 12. 6. 400 m. 11. 7. neg. 19. 10. „	9. 5. neg. 12. 6. „ 11. 7. „ 19. 10. „	9. 5. neg. 12. 6. „ 11. 7. „ 19. 10. „	9. 5. neg. 12. 6. „ 11. 7. „ 19. 10. „	9. 5. neg. 12. 6. „ 11. 7. „ 19. 10. 100 f.

f. = feinflockig, m. = mittelflockig, g. = grobflockig.

in agglutinierenden Sera ist durch folgende Tabelle illustriert. Aus finanziellen Gründen mußte leider von der Herstellung homologer Sera Abstand genommen werden (Tabelle II).

Zu bemerken ist, daß alle Agglutinationen nach derselben Technik gemacht und makroskopisch und mikroskopisch kontrolliert wurden.

Auffallend ist das wechselnde Verhalten zu verschiedenen Zeiten bei den einzelnen Stämmen; irgendeine Einteilung der Stämme nach dem serologischen Verhalten scheint unmöglich.

Stamm 1 ist nach der letzten Prüfung zweifellos empfindlich gegen Typhus und Paratyphusagglutinine; Nr. 2 und 5 agglutiniert zu Anfang fast bis zur Titergrenze in Typhusserum, verliert diese Eigenschaft aber nahezu vollkommen; Nr. 1 wird zu Anfang und Ende durch Typhus und Paratyphus B-Sera beeinflußt. Eine mit der Zeit auftretende Empfindlichkeit gegen Gärtner-Serum verliert sich am Ende der Beobachtungszeit wieder.

Die auffallend hohe Agglutinabilität des Stammes 3 in Erzindjan-Serum und die schwache in Typhusserum verschwindet ebenfalls mit der Zeit vollkommen, umgekehrt tritt bei Nr. 4 am Ende der Periode deutliche Agglutination in Erzindjan-Serum auf. Nr. 6 wird zu Anfang am stärksten in Para B-Serum, weniger stark in Typhusserum beeinflußt, doch verlieren sich diese Eigenschaften mit der Zeit. Sieht man von den quantitativen Verhältnissen ganz ab — eine Erklärung für die Unterschiede bei den einzelnen Prüfungen können wir zurzeit nicht geben — so bleibt als wichtigste Tatsache, daß alle Stämme — mit Ausnahme von Nr. 4 — zu Anfang serologisch Aehnlichkeit mit Typhusbazillen zeigen.

Welche Bezeichnung man derartigen Kulturen beilegen soll, ist schließlich Geschmackssache. Um nicht die große Unklarheit auf diesem Gebiete der Nomenklatur zu vermehren, glauben wir unsere Stämme der Aerogenes-Gruppe, soweit sie beweglich, aber der Para Coli-Gruppe zurechnen zu müssen.

Wir kommen auf den Ausgangspunkt unserer Untersuchung, den Stamm, der bei dem kranken P. G. am 50. Krankheitstage gefunden wurde, zurück. Vergleicht man diesen Stamm mit den letztgenannten 6 Stämmen, so kommt man zu folgender Schlußfolgerung:

In einer Familie erkrankte vor 2 Jahren Mutter und Kind an Typhus. Die übrigen Familienmitglieder haben demnach entweder auch einen leichten ambulanten Typhus (Typhus levissimus) durchgemacht, oder eine Zeitlang von der Mutter Typhusbazillen ohne Krankheitserscheinungen aufgenommen. Unter derem Einfluß haben verschiedene Coli- und Aërogenes-Stämme paragglutinierende Eigenschaften im Sinne Kuhns, Woithes und Gildemeisters angenommen. Diese Paragglutination hat sich bei einem Teil der Stämme auch auffallenderweise auf die Paratyphusgruppe erstreckt. Diese Stämme sind mehr oder weniger mit einem starken Variationsvermögen ausgestattet.

Derselbe Vorgang, der sich in der Familie abspielte, hat sich vielleicht bei P. G., der höchstwahrscheinlich von seiner Mutter infiziert wurde, erst während der typhösen Erkrankung entwickelt. Wir bemerken ausdrücklich, daß wir dieser Schlußfolgerung hypothetischen Charakter beimessen, glauben aber nach dem heutigen Stand unserer Kenntnisse keine bessere Erklärung abgeben zu können.

Neben dem theoretischen Interesse, welches solche Untersuchungen erwecken, führen wir diesen Fall hauptsächlich deswegen an, weil eine oberflächliche bakteriologische Untersuchung, die immer noch manchmal üblich ist, vielleicht die falsche Diagnose bei P. G. Paratyphus, bei den Geschwistern Typhusbazillen ergeben hätte.

Literaturverzeichnis.

1) Theobald u. Dorothea Smith, Journ. of Gen. Physiol. Vol. 3. 1920. No. 1. — 2) von Jeney, Zeitschr. f. Hyg. Bd. 100. — 3) Hilgers, Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 83. — 4) Revis, C., Ebenda. Abt. II. Bd. 26, 31, 33, 39, 86. — 5) Seiffert, G., Dtsch. med. Wochenschr. 1911. Nr. 3; Zeitschr. f. Hyg. Bd. 71. — 6) Neißer, Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Ref. Bd. 38, S. 57. — 7) Massini, Arch. f. Hyg. — 8) Bernhardt und Markoff, Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 65. — 9) Bitter, Ebenda. Bd. 88, S. 85. — 10) Neukirch, Zeitschr. f. Hyg. Bd. 79 u. 85; Berl. klin. Wochenschr. 1917. Nr. 15. — 11) Manteufel, Zschucke und Beger, Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 86. — 12) Jenssen, Kolle — Wassermann. Bd. VI. — 13) Huber, Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 56. — 14) Müller, Ebenda. Orig. Bd. 81. — 15) Pringsheim, Die Variabilität niederer Organismen. Berlin (Springer) 1910.

Nachdruck verboten.

Nachwirkungen der Typhusschutzimpfung im Kriege.

[Aus der Bakteriologischen Untersuchungsanstalt für die Typhusbekämpfung beim Hygiensichen Institut der Universität Jena.]

Von Dr. **Hage.**

Ueber den Wert der Schutzimpfung gegen Typhus sind trotz der ausgedehnten Anwendung im letzten Kriege die Ansichten in Deutschland noch geteilt, den begeisterten Lobrednern der Impfung sind Gegner mit ernsten Argumenten gegenübergetreten, und der Kampf der Meinungen kann noch nicht als abgeschlossen betrachtet werden.

Pfeiffer (1), der mit Kolle zusammen durch seine Arbeiten die wissenschaftliche Grundlage für die aktive Immunisierung des Menschen gegen Typhus geschaffen hat, gibt als Endresultat der Kriegserfahrungen an, daß die so auffällige geringe Morbidität und Sterblichkeit unserer Millionenheere an Typhus ganz wesentlich als ein Erfolg der Typhusschutzimpfung aufzufassen ist.

Friedberger (2), der aus den bisher vorliegenden authentischen Zahlen einen Nutzen der Impfung nicht erkennen kann, glaubte, die Lösung der Frage erst dann endgültig erbringen zu können, wenn nach dem Kriege in der ersten Friedenszeit zwischen den unter 18 und über 45 Jahre alten Männern und Männern in dieser Altersperiode, die er so gut wie vollkommen geimpft ansieht, und weiter zwischen Männern und Frauen überhaupt ein großer Unterschied in der Typhuserkrankung und der Typhussterblichkeit hervorträte.

Ickert (3) hat solche Erhebungen angestellt, er berichtet aus Stettin aus dem Jahre 1919 über 163 sichere Typhusfälle in dem Alter von 19 bis 48 Jahren, also dem Zeitraume, in dem eine Schutzimpfung in Frage kommt. Es waren beteiligt 35 Männer und 128 Frauen. Die Frauen konnten als nicht geimpft gelten, von den 35 Männern waren

12 nicht geimpft, so daß 140 nicht geimpfte Kranke 23 geimpften Kranken gegenüberstehen. Als Ursache für diese auffallende Tatsache sieht Ickert nur die Schutzimpfung an, da er alle anderen Faktoren, wie besonders die absolute Verringerung der Männerzahl infolge der Kriegsverluste glaubt ausschließen zu können. Nun ist die Zahl der Typhusfälle, über die Ickert berichtet, nicht sehr groß, Zufälligkeiten und örtlichen Verschiedenheiten könnten eine Rolle gespielt haben und nur sehr große Zahlen beweisen.

Huwald (4) fordert als Kriterium für den Wert der Schutzimpfung „gemeinsame, gleichzeitige und annähernd gleichstarke Infizierung von Menschen und dabei die Möglichkeit der Vergleichung von Geimpften und Ungeimpften". Die im Tübinger Wilhelmsstifte 1920 vorgekommene Typhusepidemie von 46 Erkrankungen mit 8 Todesfällen sieht er als seinen Anforderungen entsprechend an, denn er konnte feststellen, daß von 35 Ungeimpften 20 = 54,2 Proz., von 24 1mal Geimpften 11 = 45,8 Proz., von 36 2mal Geimpften 6 = 16,7 Proz., von 21 3mal Geimpften 4 = 19 Proz., von 19 4mal Geimpften 3 = 15,5 Proz., von 15 5- und mehrmals Geimpften 2 = 13,3 Proz. erkrankt waren und folgert daraus, daß sich die Seuche die Personen mit geringstem oder fehlendem Impfschutz geradezu ausgesucht habe. Abgesehen von der geringen Zahl, ist die von Huwald gewünschte Forderung in der Tübinger Epidemie nicht erfüllt. Es handelte sich nicht um eine einmalige gleichstarke Infizierung, sondern es kamen nach den Ausführungen von Schmidt (5), der diese Epidemie genauer beschreibt, möglicherweise mehrere Bazillenträgerinnen in Frage und daher wohl auch keine gemeinsame gleichstarke Infektion, jedenfalls wohl nicht eine einzelne, infizierende Mahlzeit. Das geht auch aus der Zeit der Zugänge hervor, die sich auf den Zeitraum vom 13. Nov. bis 7. Dezember 1920 erstreckten. Bei einer gemeinsamen Infektion kommen solche Verschiedenheiten der Inkubationszeit, wie sie Huwald beobachtet und auf die Schutzimpfung zurückgeführt wissen will, nicht vor. Perkins (6) z. B. beschreibt eine Nahrungsmittelepidemie mit annähernd der gleichen Erkrankungszahl (41 Fälle) durch gemeinsames Essen, zu dem ein Bazillenträger den Salat hergerichtet hatte. Hier traten die Krankheitserscheinungen bei einem Teil der Infizierten zwischen dem 6. und 9. Tage, bei dem anderen Teil zwischen dem 18. und 22. Tage auf. Levy und Gaethgens (7) konnten einmal bei 70 Erkrankten den Inkubationstag ganz genau bestimmen, und da betrug die Inkubation 23mal 13 Tage, 21mal 14 Tage, 10mal 11 Tage, 6mal 15 Tage, 3mal 16 Tage, 3mal 17 Tage, 3mal 18 Tage und 1mal 12 Tage. Das Minimum stellt sich auf 11, das Maximum auf 18 Tage. Bei einer von mir beobachteten Laboratoriumsinfektion, bei der die Einbringung der Typhusbazillen durch Verschlucken beim Pipettieren genau festgestellt war, traten die ersten unbestimmten klinischen Erscheinungen (Kopfschmerzen) am 13. Tage auf. Beachtenswerter als die Huwaldschen Feststellungen sind die Erfahrungen von Bardachzi (8). „Am meisten für die Erfolge der Impfung sprechen die Vergleiche der Typhusmorbidität bei geimpften Militärpersonen und ungeimpfter Zivilbevölkerung unter gleichen Bedingungen. Ich selbst konnte in Przemysl gleiche Erfahrungen machen. In der dortigen großen Garnison nahmen nach der Durchimpfung die Typhusepidemien rasch ab, und schließlich waren frische Typhuserkrankungen im Infektionsspital eine Seltenheit und gehörten der Gruppe des Typhus levissimus

an. In der Stadt wütete aber beständig die Typhusepidemie. . . . Hier lagen aber die Verhältnisse nicht so, daß das Freibleiben des Militärs auf günstigere Verhältnisse desselben und auf das schon 1870 beobachtete allmähliche Erlöschen der Epidemie bei der Truppe hätte zurückgeführt werden können. Ein großer Teil der aus Przemysl und Umgebung stammenden Mannschaften lebten im innigen und steten Kontakt mit ihren Familien, viele Mannschaftspersonen lebten erlaubt oder unerlaubt ständig oder während des Urlaubes zu Hause. Oft beteiligten sie sich an der Pflege der Kranken und waren so der Infektion in höchstem Maße ausgesetzt. Und dennoch sind unter der Garnison keine Typhusfälle mehr vorgekommen."

Neuerdings haben sich französische Autoren, ebenfalls gestützt auf nach dem Kriege gewonnene Erfahrungen, sehr warm für den Wert der Schutzimpfung eingesetzt.

Crouzon (9) hat so gute Erfahrungen mit der Typhusschutzimpfung des Personals der Salpetriere gemacht, daß er alle Krankenhauspersonen, die möglicherweise mit Typhuskranken zusammenkommen können, gegen Typhus impfen will. Chauffard (10) fand nach dem Kriege die Zahl der Typhuserkrankungen bei Männern gering, bei Frauen unverändert hoch, und schlägt deshalb eine obligatorische Schutzimpfung vor, die 3mal (im Alter von etwa 14, 18 und 20 Jahren anzuwenden wäre). Rebattu und Milhaud (11) haben Material aus Lyon zusammengestellt, wo seit 1908 alle Typhuskranken auf besonderen Abteilungen behandelt werden. Sie vergleichen die Jahre 1912 (210 Typhen) und 1913 (243 Typhen) mit 1920 (212 Typhen). Der Anteil der Männer ist von 38 Proz. auf 28 Proz. heruntergegangen, aber die Beteiligung der Altersklassen unter 21 Jahren von 21 Proz. und 10 Proz. auf 31 Proz. gestiegen. Sie machen selbst darauf aufmerksam, daß hierbei die durch den Krieg bedingte Abnahme der Männer zwischen 20 und 40 Jahren und der Umstand, daß viele von ihnen während des Krieges Typhus überstanden haben, eine Rolle spielen kann, sie halten aber die Schutzimpfung für den Hauptgrund für die Abnahme, weil die Geimpften nur einen geringen Teil (15 Proz.) der 1920 an Typhus Erkrankten geliefert haben, bei der Hälfte der trotz der Impfung an Typhus Erkrankten die Impfung unvollständig war und weil die Krankheit bei den Geimpften weit gutartiger verlief. Pilod (12) hält die Durchführung der fortlaufenden Desinfektion der Ausscheidungen von Keimträgern und Dauerausscheidern zwar für wirksam, verkennt aber nicht ihre gelegentlich großen Schwierigkeiten. Gegen die gesetzliche Einführung der Typhusschutzimpfung bei der Zivilbevölkerung noch bestehende Vorurteile müßten die Aerzte bekämpfen. Er sieht die Schutzimpfung nötig an in Orten mit endemischem und epidemischem Typhus, in Kurorten, bei Reisenden, die in typhusverseuchte Gegenden kommen, und beim Krankenpflegepersonal. Gegenanzeigen gegen die Schutzimpfung sind ihm nur offene Tuberkulose, Zuckerruhr, chronische Nierenentzündung, unausgeglichene Herzfehler, akute Infektionskrankheiten, Eiterungen, nicht dagegen das höhere Alter und das Kindesalter. Achard (13) will ebenfalls eine gesetzliche Verordnung für die Einführung der Typhusschutzimpfung bei der Zivilbevölkerung haben. Er will zwischen dem 15. und 21. Lebensjahre mehrere Schutzimpfungen vornehmen lassen. Loir und Legangneux (14) haben im Jahre 1922 eine Typhusepidemie in Havre beobachtet, die auf den Genuß von Austern zurückgeführt wurde, die roh verzehrt worden waren. Während sonst die Männer häufiger von Typhus befallen waren als die Frauen, war es jetzt umgekehrt. Nur 3 der erkrankten Männer waren geimpft, bei zweien blieb es zweifelhaft. Die Autoren sehen hierin einen sicheren Beweis für den Wert der Typhusschutzimpfung. Dopter (15) sieht den Beweis für den Wert der Typhusschutzimpfung in dem von verschiedenen Autoren (Chauffard, Sergent, Michand u. a.) zusammengestellten Uebersichten über Beteiligung der Geschlechter an Typhus im verschiedenen Lebensalter vor und nach dem Kriege, d. h. bei Männern nach der ausgedehnten Impfung im Kriege. Frauen sind ebenso wie früher beteiligt, bei Männern ist das Verhältnis jetzt umgekehrt, die Jüngeren als 20 Jahren, also die Nichtgeimpften, im viel höheren Prozentsatz typhuskrank als die Aelteren, d. h. die Geimpften. Dopter will den Vorteil der Schutzimpfung auf die Zivilbevölkerung ausgedeht haben und den im Kriege erworbenen Schutz der Soldaten durch weitere Impfungen erhalten. Zwangsimpfung erscheint ihm unmöglich: allgemeiner Widerstand, ähnlich wie bei der Pockenimpfung gegen die nicht reaktionslose Typhusimpfung, erhöht durch anfänglich schlechte Erfahrungen beim

Militär, wirtschaftliche Nachteile (Arbeitsausfall nach der Impfung), Rentenansprüche, da viele Krankheiten sicher auf die Schutzimpfung geschoben würden, kurze Dauer der Schutzimpfung, daher häufige Nachimpfungen und erhöhter Widerstand. Dopter schlägt daher statt Zwang Ueberredung vor. Helfer ist dabei die Furcht vor Erkrankung, besonders bei Epidemien. In Hospitälern und Irrenanstalten müßten alle Kranken geimpft werden, ebenso Aerzte und Pflegepersonal. Wöchnerinnen, Kellner, Kellnerinnen usw. müßten, wenn nicht geimpft, am Ausüben des Gewerbes gehindert werden. Kinderimpfung sei nötig, da Kinder häufig zur Verbreitung des Typhus beitrügen und Schutzimpfung gut vertragen. Besonders Aerzte, weiter Lehrer sollen sich in den Dienst dieser Propaganda stellen, der Staat muß Mittel dazu hergeben.

Auch die französischen Autoren stützen sich nicht auf große Zahlen bei ihren Beobachtungen über das Erkrankungsverhältnis zwischen Männern und Frauen. Im folgenden sind deshalb die größeren Zahlen aus dem Gebiete der verstärkten Typhusbekämpfung in Mitteldeutschland aus den Jahren 1921 und 1922 zusammengestellt. Das Gebiet erstreckt sich auf ganz Thüringen und von Preußen auf die Regierungsbezirke Erfurt und Merseburg (ohne die Kreise Liebenwerda, Schweinitz, Torgau und Wittenberg), sowie die Kreishauptmannschaft Schmalkalden des Regierungsbezirkes Cassel mit einer Einwohnerzahl von 3104971 Menschen. Es handelt sich um sichere Typhusfälle, die bakteriologisch oder serologisch bestätigt wurden. Das Material bietet insofern einen Vorteil gegenüber solchem, das nur durch Krankenhausbeobachtung gewonnen ist, als hier wohl so ziemlich sämtliche Typhusfälle des Gebietes, auch die leichten, verzeichnet sind, denn in der verstärkten Typhusbekämpfung werden durch planmäßiges Verfolgen jeder einzelnen Typhuserkrankung immer wieder in der Umgebung des Kranken weitere Fälle aufgedeckt, die ohne dieses Vorgehen sich der Feststellung entzogen hätten. Die Ergebnisse sind in folgender Tabelle zusammengestellt: Ueber das 49. Lebensjahr ist absichtlich nicht herausgegangen, da dieses, wie später ersichtlich, für Typhuserkrankungen von besonderer Bedeutung ist.

Wir sehen, daß im Jahre 1921 von den Männern im geimpften Alter, d. h. von 21—49 Jahren, an Typhus 119 erkrankt waren, von den gleichalterigen Frauen dagegen 331. Annähernd gleich groß ist in beiden Altersgruppen auch der Unterschied für das Jahr 1922, hier lauten die entsprechenden Zahlen für die Männer 120, für die Frauen 287, für beide Jahre zusammen 239 Männer, dagegen 618 Frauen.

Vor dem geimpften Alter sind keine wesentlichen Unterschiede festzustellen. In den beiden Jahren zusammen sind im Alter von 14 bis 20 Jahren 264 Männer und 238 Frauen erkrankt. Ein geringeres Ueberwiegen der Männer in diesen Altersklassen ist auch schon in früheren Zusammenstellungen gefunden.

Nach dem 49. Jahre überwiegen wieder die Frauen, es sind im Alter von 50 und mehr Jahren 64 Männer und 101 Frauen an Typhus erkrankt.

Also finden wir vor und nach dem impfpflichtigen Alter eine Beteiligung der Geschlechter, wie sie sich auch vor der Einführung der Typhus-Schutzimpfung darstellte, im geimpften Alter aber gerade das Umgekehrte: es erkrankten fast 3mal soviel Frauen als Männer, d. h. mit anderen Worten, die früheren Schutzimpfungen haben die Morbidität an Typhus fast auf ein Drittel verringert.

Nicht mehr hingegen ließ sich ein Einfluß der schon lange zurückliegenden Schutzimpfungen auf die Mortalität feststellen. Von den als geimpft angesehenen Männern starben 18 Proz., von den nicht ge-

1921							1922						
	Männer			Frauen				Männer			Frauen		
Alter	Erkrankt	Gestorben	%	Erkrankt	Gestorben	%	Alter	Erkrankt	Gestorben	%	Erkrankt	Gestorben	%
10—13 Jahre	115	3	2,7	95	6	6,3	10—13 Jahre	112	10	9	98	4	4,1
14—20 „	150	15	10	124	15	12,1	14—21 „	114	15	13	114	13	11,4
21—24 Jahre	32	1	3,1	80	8	10,0	22—24 Jahre	26	10	38,5	84	6	7,1
25—29 „	19	3	15,7	72	12	16,6	25—29 „	26	5	19,2	68	12	17,6
30—34 „	15	4	26,6	58	7	12,1	30—34 „	21	3	14,3	50	7	14,0
35—39 „	14	4	28,5	38	7	18,4	35—39 „	14	2	14,3	31	7	22,5
40—44 „	18	2	11,1	38	4	10,5	40—44 „	12	3	25,0	28	4	14,2
45—49 „	21	5	23,3	45	8	17,7	45—49 „	21	1	4,8	26	3	11,5
50—54 Jahre	12	3	25	27	11	40,7	50—54 Jahre	7	2	28,5	17	2	11,8
55—59 „	3	—	0	14	—	0	55—59 „	13	4	30,8	12	—	0
60 und mehr Jahre	15	3	20	15	5	33,3	60 und mehr Jahre	14	6	42,9	16	6	37,5

impften Frauen nur 13,8 Proz. Es starb aber auch von den über 50 Jahre alten Männern ein höherer Prozentsatz (28 Proz.) als von den Frauen (23,7 Proz.), während in dem Alter von 14 bis 20 Jahren die Mortalität gleich war (11,4 Proz.: 11,3 Proz.).

Der von Friedberger geforderte große Unterschied in Typhuserkrankungen bei Geimpften und Nichtgeimpften nach dem Kriege erweist sich in diesen Zahlen. Daß ein auffallender Unterschied auch nach so lange vorhergegangener Schutzimpfung sich zeigt, ist überraschend, da im Verlaufe des Krieges die Zeit des Impfschutzes beim Typhus immer kürzer und schließlich nur auf ein halbes Jahr beziffert wurde. Friedberger selbst aber sagt: „Ja man kann annehmen, daß der Schutz gegenüber der verminderten Infektionsgefahr unter den Friedensverhältnissen noch länger andauert". Hier nimmt Friedberger einen Schutz gegenüber der verminderten Infektionsgefahr an, also gibt er damit doch eine gewisse Wirksamkeit der Schutzimpfung zu, wie er ja auch sonst betont, daß das letzte Wort über den Wert oder Unwert der Typhusschutzimpfung noch nicht gesprochen sei.

Zum Vergleich sind Männer als Schutzgeimpfte und gleichalterige Frauen als Nichtschutzgeimpfte gegenübergestellt. Das Geschlecht allein kann die Unterschiede nicht hervorrufen. „Im allgemeinen ist bis zum 49. Lebensjahre das männliche Geschlecht, von da an ausgesprochen das weibliche Geschlecht prozentual stärker beteiligt" [Kutscher (16)]. „Das Geschlecht bedingt, wie es scheint, bezüglich der Erkrankung beim Typhus nur geringe Unterschiede. Im ganzen mögen unter den Erwachsenen die Männer etwas stärker befallen werden als die Weiber. Ob dieser Unterschied in den eigentlichen Geschlechtsverhältnissen begründet ist, erscheint mehr als unwahrscheinlich. Ausschlaggebend ist hier wohl für die Männer die durch die größere Mannigfaltigkeit des Aufenthaltes, der Ernährung und der Beschäftigung häufiger bedingte Gelegenheit, sich bei gleicher Empfänglichkeit der Ansteckung auszusetzen" [Kurschmann-Hirsch (17)]. Natürlich ist es nicht leicht, die Infektionsmöglichkeit der Männer und der Frauen in den zum Vergleich angeführten Altersklassen genau gegeneinander abzuwägen, es

muß dahingestellt bleiben, ob sie bei beiden Geschlechtern überall gleich groß war. Zu viele unsichere Faktoren sind vorhanden, mit denen gerechnet werden muß, als daß die Frage einfach mit ja oder nein beantwortet werden könnte. Frauen können sich leichter infizieren durch Nahrungsmittel beim Zubereiten der Speisen vor dem Kochen, z. B. Probieren von ungekochter Milch u. a., durch Wäsche, durch engere Berührung mit unerkannt infizierten Kindern, durch Pflege erkrankter Familienmitglieder, zumal jetzt der hohen Krankenhauskosten wegen sehr viele Typhuskranke zu Hause gepflegt werden. Männer können sich leichter infizieren auf ihren Arbeitsstätten (gemeinsame Klosetts, Bäder, Kleiderablagen, Arbeitsgeräte), durch Arbeiten mit Dung, als Kanal- und Kloakenarbeiter u. a. Natürlich können sich jetzt auch bei der großen Anzahl beruflich tätiger Frauen auf Männerart die Frauen infizieren. Frauen melden sich nicht so leicht krank (sind widerstandsfähiger gegen Kranksein), sie gehen nicht ins Krankenhaus aus Rücksicht auf ihren Haushalt. Bei Männern werden ihrer häufigeren Zugehörigkeit zu Krankenkassen wegen auch die leicht Kranken leichter gemeldet, und besonders Ledige werden eher ein Krankenhaus freiwillig aufsuchen oder durch Zwang dazu veranlaßt werden, während Verheiratete der hohen Kosten wegen schwerer in ein Krankenhaus zu bringen sein werden. Je höher aber die Zahl der ins Krankenhaus Aufgenommenen ist, desto höher ist auch die Zahl der überhaupt gemeldeten Typhusfälle. Gerade die leichteren Fälle werden in der ständigen Beobachtung des Krankenhauses und durch die diesen zur Verfügung stehenden besseren diagnostischen Hilfsmittel eher zu erkennen sein, obwohl, wie die mehrfache Erfahrung im hiesigen Arbeitsgebiete lehrt, auch in gut geleiteten Krankenhäusern der Typhus zuweilen nicht erkannt wird. Wir wissen, daß vorübergehende geistige und körperliche Zustände, wie schwere Gemütseindrücke, Kummer, Sorgen, starke körperliche Anstrengungen die Disposition für den Typhus zu steigern vermögen. Man könnte nun in Deutschland auch daran denken, daß unter den Teuerungsverhältnissen besonders die Frauen zu leiden hätten, indem auf ihnen in erster Linie die täglichen kleinlichen Sorgen des Haushaltes lasten, für den Siegerstaat Frankreich trifft das aber nicht zu, und aus ihm wird ebenso eine stärkere Beteiligung der Frauen am Typhus nach dem Kriege gemeldet. Man könnte auch gerade das Umgekehrte annehmen und sagen, die Frauen befinden sich in günstigeren Gesundheitsverhältnissen als die durch den Krieg mitgenommenen Männer und sind daher besonders für den Typhus empfänglich, da der Typhus bekanntlich besonders häufig gut genährte, in günstigen Verhältnissen befindliche Individuen befällt. Nachdem aber 3 bis 4 Jahre seit Kriegsende verstrichen sind, dürfen hier keine besonderen Unterschiede bei großen Vergleichszahlen bestehen. Natürlich darf die absolute Verringerung der Zahl der Männer durch die Kriegsverluste in den zum Vergleich herangezogenen Altersklassen nicht außer Acht gelassen werden. Ickert (l. c.) hat aber durch seine Berechnung gezeigt, daß dieser Faktor nicht so ausschlaggebend sein kann, um die großen Unterschiede in der Erkrankung der Männer und Frauen zu erklären. Das gleiche gilt für die Selbstimmunisierung der Männer durch im Kriege überstandenen Typhus. Schließlich schützt ein ein-, ja sogar ein mehrmaliges Ueberstehen von Typhus nicht absolut gegen eine neue Ansteckung. Gerade dieses Moment ist gegen den Wert der Schutzimpfung mitverwendet worden, indem gefolgert wurde,

wenn schon das Ueberstehen eines Typhus, bei dem lebende Erreger in den Körper eingebracht werden, nicht gegen eine Neuerkrankung schützt, wie soll erst die Impfung mit toten Erregern einen Schutz ausüben können. Nun hat aber Pfeiffer (l. c.) mit toten Erregern einen Schutz gegen die entsprechende Erkrankung auszuüben vermocht, aber er hat auch mehrfach darauf hingewiesen, daß wegen der individuellen Verschiedenheit in der Reaktionsfähigkeit des Menschen von solchen Impfungen ein absoluter Schutz nicht erwartet werden kann.

Es wäre auch noch an bestehende örtliche Verschiedenheiten zu denken, aber bei dem relativ großen Gebiete, das die verstärkte Typhusbekämpfung umfaßt, und in das rein ländliche Kreise und solche mit stärkerer Anhäufung von Menschen in vorwiegend industriellen Kreisen einbegriffen wird, werden solche, bei kleineren Bezirken vielleicht bestehende Unterschiede sich verwischen. Nehmen wir aus der Gesamtzahl beispielsweise die Zahlen, die bei einer, einen einzelnen Ort betreffenden Epidemie im Jahre 1921 gewonnen wurden, so sehen wir wieder die Männer im impfpflichtigen Alter weniger beteiligt. Von den an Typhus erkrankten Männern waren 5 im Alter von 21—49 Jahren, von den erkrankten Frauen 35 in den gleichen Altersklassen, während von den kranken Männern 30 im Alter von 14—20 Jahren sich befanden, von den erkrankten Frauen dagegen nur 16 den entsprechenden Altersklassen angehörten. Es besteht auch also hier gerade das umgekehrte Verhalten in den entsprechenden Altersklassen gegen den Typhus, auf das die französischen Autoren bei ihrer Beweisführung so großen Wert legen. Lehrreich ist auch eine von einer bestimmten Stelle (Fleischerladen) ausgehende Epidemie des Jahres 1922. Hier kann man annehmen, daß der Genuß des infizierten Fleisches mindestens bei Männern und Frauen der gleiche war, eher mögen die Männer den Hauptanteil an dem Fleische genossen haben. Es erkrankten:

Männer	im	Alter	von	15—19	Jahren 2
Frauen	„	„	„	15—19	„ 2
Männer	„	„	„	22—49	„ 3
Frauen	„	„	„	22—49	„ 15

Wieder sehen wir die Männer im impfpflichtigen Alter weniger beteiligt als Frauen derselben Altersstufe. Ein weiteres Beispiel ist die Typhusepidemie in Dittersbach-Oberwaldenburg im Jahre 1921. Es erkrankten:

Alter	männlich	weiblich
15—18	53	23
19—48	117	157
über 48	31	34[1])

In Dittersbach-Oberwaldenburg handelte es sich um eine Trinkwasserepidemie. Kathe und Schade (18) führen die größere Beteiligung der Frauen an der Epidemie hierauf zurück, wenn sie sagen, „daß der vorwiegend im Haushalt beschäftigte Teil der weiblichen Bevölkerung stärker an der Erkrankungsziffer beteiligt ist als der männliche, erscheint bei einer Trinkwasserepidemie ganz selbsverständlich". Gärtner (19) hat aber schon früher davor gewarnt, aus einer stärkeren Beteiligung des weiblichen Geschlechtes den Schluß zu ziehen, daß dieser Umstand auf eine Wasserepidemie durch die intensivere Be-

1) Obige Zahlen sind mir liebenswürdigerweise von Herrn Kreismedizinalrat Dr. Hübner in Waldenburg überlassen.

rührung mit Wasser bei weiblichen Arbeiten hindeute. Es darf also auch in der Dittersbacher Epidemie ein Einfluß früherer Typhusschutzimpfngen angenommen werden, wie er in der geringeren Beteiligung der im geimpften Alter stehenden Männer zum Ausdruck kommt.

Um den Wert der Schutzimpfungen zu beweisen, ist vorwiegend mit dem Ergebnis von Epidemien gearbeitet. „Nach ewig ehernen, großen Gesetzen müssen anscheinend die Epidemien also ihres Daseins Kurve vollenden, kaum beeinflußt durch die Impfung", sagt Friedberger (1), während Schwenninger (20) von „dem Gaukelspiel" spricht, „in dem uns der Gang, das Verhalten, die Bewegung der Epidemien narrt". „Zwei können auf die gleichen Tatsachen sich stützen, doch sehr uneins sein, denn es kommt sehr darauf an, von welcher Seite man die Tatsachen ansieht. Jeder Beschauer, der nicht das Ganze umfaßt und nicht umfassen kann, ist zur Einseitigung geneigt, glaubt an das, was er sieht, und nicht an das, was er nicht sieht, wenn auch andere anders sehen" [Pettenkofer (21)]. Als Pettenkofer gegen die kontagionistische Auffassung der Cholera in Hamburg durch Kirchner polemisierte, führte er als Beweis seiner Ansicht auch an, daß sich die Choleraepidemie von 1854 in München und die Choleraepidemie von 1892 in Hamburg zum Verwechseln glichen und „dabei hätte man vom Stande des Kommabazillus in Hamburg so viel und in München nichts getan, was ein Bakteriologe heutzutage billigen könnte." Es ist also nichts Neues, wenn der auffallend gleiche Verlauf früherer Typhusepidemien ohne Impfung und Epidemien, vor oder bei denen geimpft wurde, als Beweis gegen die Impfung aufgestellt wird. Die ewig ehernen, großen Gesetze, nach denen Epidemien nach Friedberger verlaufen sollen, lassen sich doch wohl etwas abändern, auch wenn wir einmal ganz von der Impfung absehen wollen, sonst müßte der beamtete Arzt ja tatenlos seine Hände in den Schoß legen und ergeben abwarten, bis die Epidemien ihres Daseins Kurve vollendet hätten. Man läßt doch die Epidemien sich heutzutage nicht einfach totlaufen, hat es auch früher nicht getan. Die Flucht, die einstmals große Scharen vor den Seuchen hertrieb, war schon eine, wenn auch umgekehrte Art der Isolierung der Kranken. Heute bringen wir die Kranken in Absonderung, die vor der Seuche sich flüchtende Bevölkerung isolierte gewissermaßen die Gesunden. Es wurden aber auch schon in einer Zeit, in der von belebten Krankheitserregern noch nichts bekannt war, ganz zweckmäßige Maßnahmen gegen Epidemien getroffen.

Wenn in Deutschland ebenso wie in Frankreich, den beiden Ländern, in denen prozentual wohl die häufigsten Schutzimpfungen gegen Typhus bei der männlichen Bevölkerung entsprechend der stärksten Heranziehung ihrer wehrfähigen Männer zum Kriegsdienst vorgenommen worden sind, die gleichen Erscheinungen nach dem Kriege beobachtet werden, gleiche Typhusmorbidität wie vor dem Kriege bei Ungeimpften, auffallend geringere bei Geimpften, darf der Schluß gezogen werden, daß für die gleiche Wirkung auch die gleiche Ursache vorgelegen hat. Die Typhusschutzimpfung hat einen nachhaltigen Einfluß ausgeübt, allerdings nicht im Sinne einer absoluten Verhinderung der Erkrankung bei den Geimpften.

Hier kommen wir zu der Frage, ob es überhaupt möglich ist, aus statistischem Material den Wert der Schutzimpfung beim Typhus zu bestimmen. Oeller (23) meint, dies würde wohl nie im vollen Umfange der Fall sein, da uns keine Methode zur Verfügung steht, die

Zahl der verhinderten Erkrankungen bei tatsächlich Infizierten einigermaßen in Rechnung zu setzen und da eine Unzahl von — im Sinne des Wortes — ambulatorischen Typhusfällen nie zur Meldung kam." Dies gilt natürlich auch für unsere aufgestellte Behauptung, daß im Gebiet der verstärkten Typhusbekämpfung alle, auch die leichten Typhusfälle verzeichnet sind. Es sind aber eben „Typhusfälle", die zur Meldung kamen, nicht dagegen die gar nicht unter dem Bilde von Typhus verlaufenden Typhuserkrankungen der Geimpften. Es muß daher jede Statistik fehlerhaft sein, da sie wohl die Ungeimpften in ihrer Beteiligung am Typhus einigermaßen richtig erfassen kann, nicht aber die Geimpften. Die Oellerschen Beobachtungen über den verschiedenen Verlauf des Typhus bei Ungeimpften (Lähmungstyp) und Geimpften (Reiztyp), die er auf Grund serologischer Vorstellungen gewonnen hat, sind überaus wertvoll und geeignet, das Problem der Typhusschutzimpfungen in seiner Wertbeurteilung auf eine ganz andere Grundlage zu stellen. Oeller kommt jedenfalls nach der Beurteilung der klinischen Zustandsbilder in Erkrankungsfällen zu dem Schluß, daß der Schutzgeimpfte den besten, der ungeimpfte Erwachsene den geringsten Krankheitsschutz gegen Typhus aufweist.

Welche Stellung kann nun die Schutzimpfung in der Typhusbekämpfung überhaupt einnehmen? Daß sie die alleinige Maßnahme bilden soll, wird auch kein noch so begeisterter Anhänger der Typhusschutzimpfung fordern. Marx (23) sieht als „großes Mittel" einzig und allein die Schutzimpfung an, „selbstverständlich ohne auch nur eine einzige der hygienischen Maßnahmen außer Acht zu lassen, die alle nötig sind, wenn hier wirklich einmal ein Ende gemacht werden soll". Pfeiffer (l. c.) will keineswegs sagen, daß durch die Schutzimpfung „die mit so viel Tatkraft und Ausdauer unter den ungünstigsten äußeren Verhältnissen ins Werk gesetzte sonstige Verbesserung der hygienischen Verhältnisse überflüssig ist." Eine allgemeine obligatorische Schutzimpfung, wie sie die französischen Autoren fordern, wird unter den augenblicklichen Verhältnissen in Deutschland noch weniger durchzuführen sein, als in Deutschland, und auch für dieses Land werden die Schwierigkeiten durchaus nicht verkannt, so daß wohl sobald kein Staat mit einer allgemeinen Zwangsimpfung gegen den Typhus vorgehen wird. In Polen allerdings hat durch das Gesetz vom 25. Juli 1919 der Minister der öffentlichen Gesundheit das Recht, um erfolgreich die ansteckenden Krankheiten, soweit sie anzeigepflichtig sind, zu bekämpfen, eine prophylaktische Schutzimpfung anzuordnen. Von diesem Recht ist auch schon Gebrauch gemacht, durch Verordnung vom 12. Jan. 1921 wurde eine zwangsweise Impfung gegen Typhus verfügt. Geimpft sollten werden: Das gesamte Heil- und Pflegepersonal in der Krankenpflege; das Personal der Desinfektionsanstalten, Bade- und Müllverbrennungsanstalten, Nachtasylen; das ärztliche und Hilfspersonal für erste Hilfeleistung und Wachdienst in den Städten; Angestellte in der Wasserversorgung; alle bei der Schiffahrt auf den Wasserläufen beschäftigten Personen; Eisenbahnschaffner; Gemeindepolizei; Personal der städtischen Straßenreinigung, der Leichenbestattungen, der Kirchhöfe; Lumpensammler, Trödler; Personal der Gefängnisse, die Gefangenen und Verhafteten.

Auch in Haiti läßt das Gesetz betr. Impfung vom 18. Juli 1921 eine zwangsweise Schutzimpfung gegen Typhus zu; „Beim Ausbruch einer Epidemie kann auf dem Verwaltungswege der Impfzwang auch

bei anderen gemeingefährlichen oder sonst übertragbaren Krankheiten angeordnet werden, sofern es hiergegen einen wirksamen Impfstoff gibt."

Bei Epidemien wird sich wenigstens ein Teil der Bevölkerung freiwillig impfen lassen. In Jena bei einer großen Typhusepidemie 1915 unterzogen sich allerdings von der gesamten Einwohnerschaft noch nicht 7 Proz. ohne Zwang der Impfung [Abel (24)]. Dabei lassen sich Massenimpfungen, wie Abel (l. c.) bei der erwähnten Epidemie feststellte, „in einfacher Weise, ohne sorgsame gesundheitliche Voruntersuchung der Impflustigen und ohne die Besorgnis von einer Schädigung der Geimpften" veranstalten. Zum mindesten sollte in Deutschland bei den am meisten gefährdeten Berufen, bei den Aerzten und dem Krankenpflegepersonal, die Schutzimpfung Anwendung finden. Sehen wir doch immer wieder Ansteckung des Pflegepersonals, trotz aller Belehrungen, und nicht allein bei zunächst nicht erkanntem Typhus, sondern auch bei ausgesprochenen Fällen. Die Aerzte sollten, auch wenn bei ihnen weniger Infektionen festzustellen sind, schon des guten Beispiels wegen sich der Impfung unterziehen, denn nichts hindert die Einführung einer Maßnahme mehr, als wenn die, die in Wort und Schrift sich für sie einsetzen, sich vor ihrer Anwendung am eigenen Körper drücken.

Bei dem Ausbruch einer Epidemie wird man doch nicht im Vertrauen auf die Schutzimpfung auf die Absonderung möglichst aller Typhuskranken in Krankenhäusern und auf sorgfältige Desinfektion verzichten. Daß man durch diese Maßnahme allein möglichst schnell eine große Epidemie eindämmen kann, zeigt das Beispiel von Dittelsbach-Oberwaldenburg (Kathe und Schade, l. c.), bei der von 639 Typhuskranken 630 in Anstaltspflege und Absonderung gebracht und streng die seuchenpolizeilichen und Desinfektionsvorschriften befolgt wurden. Bei explosionsartigem Ausbruch des Typhus würde man auch mit der Schutzimpfung zu spät kommen, man könnte nur einen Teil der späteren Kontaktinfektionen verhindern. Allerdings stellt auch „bei Massenausbrüchen mit unüberblickbarer Verstreuung des Ansteckungsstoffes „die Impfung" den einzigen positiven Schutz, den man den Bedrohten gewähren kann", dar (Abel l. c.). Die Schwere der Erkrankung kann auch noch in der Inkubationszeit durch eine Impfung herabgedrückt werden, wie eine Beobachtung von Duffau (25) zeigt. Er beobachtete das Auftreten von Typhus infolge Genusses von infiziertem Wasser bei einer kleinen Truppenabteilung. Vor Beginn der Erkrankung, während der Inkubationszeit, war ein Teil der Befallenen mit Typhusimpfstoff Vincent präventiv geimpft worden. Alle, auch die Geimpften, erkrankten später an Typhus, doch verlief die Erkrankung bei den Geimpften leichter. Eine von mir wenige Stunden nach Einbringung von Typhuskultur in den Mund durch unvorsichtiges Pipettieren vorgenommene Schutzimpfung verhinderte nicht, daß eine ganz außerordentlich schwere Erkrankung mit einem Rückfall auftrat, der infizierende Stamm hatte auch bei früheren Typhusfällen schwere Erkrankungen mit mehrfachen Rezidiven gemacht. Bei epidemischem Vorkommen von Typhus in kleineren Ortschaften wird sich die Impfung wohl gut bewähren, zumal dann noch Impfstoff von den an Ort und Stelle gewonnenen Typhusbazillen hergestellt und, da ja die Zeit nicht mehr drängt, durch etwa 4wöchige Ablagerung seiner starken Reaktionsfähigkeit entkleidet werden kann. Vielleicht läßt sich mit der von Besredka (26) eingeführten und in der Praxis von französischen Autoren (27) angeblich bereits mit Erfolg angewendeten Immuni-

sierung durch orale Verabreichung von abgetöteten Typhusbazillen eher etwas erreichen, da bekanntlich eher Pillen geschluckt werden als Einspritzungen erduldet, besonders bei Epidemien wird von einem großen Teile der Bevölkerung von den Pillen wohl Gebrauch gemacht werden. Es liegen aber hierüber in Deutschland noch keine Erfahrungen im größeren Stile vor, in einer geringen Anzahl von Fällen sah ich durch Verabreichung solcher Pillen (Edovakzin) von Fornet (28) kein Ansteigen der Agglutinationsfähigkeit des Serums für Typhusbazillen.

Um weitere Beobachtungen über den Wert der Typhusschutzimpfung zu sammeln, erscheint es zweckmäßig, die Impfung möglichst einheitlich zu gestalten, etwa nach den Bestimmungen für die Pockenimpfung. Bisher wird irgendwo und irgendwie Impfstoff gegen Typhus hergestellt und damit geimpft. Die Ergebnisse lassen sich dann mit anderweitig vorgenommenen Impfungen gar nicht vergleichen. Es müßte der Impfstoff in bestimmten Instituten nach einheitlichen Regeln hergestellt und abgegeben werden. Die Institute führen Listen über Herstellung und Abgabe der Impfstoffe. Die Aerzte reichen den Instituten am Jahresschlusse Listen über die ausgeführten Impfungen ein und teilen ihre Erfahrungen mit. Dann würde ein einheitliches Material gewonnen, aus dem der Erfolg oder Mißerfolg sich besser erweisen würde, als aus den bisherigen Einzelbeobachtungen, bei denen zu viele nicht vergleichbare Einzelfaktoren vorliegen. Besonderer Wert ist dabei unter anderem auf die Feststellung zu legen, ob im Beginn, auf der Höhe oder beim Abklingen einer Typhusepidemie geimpft ist.

Die Anfänge solcher Zusammenstellungen über ausgeführte Typhusschutzimpfungen sind in Preußen schon für einzelne Jahre gemacht (29). Es wird aus den Jahren 1915—1917 über die in den einzelnen Regierungsbezirken vorgenommenen Impfungen berichtet und die Schlußfolgerung gezogen, daß die Schutzimpfung gegen Typhus nicht immer vor Erkrankung schützt, aber meistens die Erkrankung mildert.

Auf Einzelbeobachtungen vom Versagen der Impfung ist kein großer Wert zu legen. Es ist eben das eine Individuum empfänglicher für eine Typhuserkrankung als ein anderes, und ebenso wie eine frühere Typhuserkrankung nicht völligen Schutz verleiht, braucht es auch die Impfung nicht zu tun. Ich verfüge über eine Beobachtung, nach der ein Mann vor dem Kriege Typhus überstanden hatte, im Kriege sehr häufig gegen Typhus geimpft war und nach dem Kriege trotzdem wieder an Typhus erkrankte. Allerdings verlief die Erkrankung sehr leicht (der Kranke wehrte sich gegen die Diagnose „Typhus", da er darin ja Erfahrungen habe und diesmal eine „ganz andere Krankheit" vorläge) und wäre sicher nicht als Typhus angesprochen, wenn nicht in der Umgebung des Kranken mehrere andere Personen an Typhus erkrankt wären und der bakteriologische Nachweis der Typhusbazillen bei ihm selbst gelungen wäre. Das Wichtigste ist aber das Vorbeugen von Typhusausbrüchen durch Herangehen an die eigentliche Quelle der Krankheit, an die Bazillenträger. Die Lösung der Bazillenträgerfrage, so wenig aussichtsreich sie auch zurzeit noch erscheint, muß das Hauptproblem jeder Typhusbekämpfung sein.

Literaturverzeichnis.

1) Handb. d. ärztl. Erfahrung. im Weltkriege 1914/18. Bd. 7. Hygiene. — 2) Ztschr. f. Immunitätsforsch. Orig. Bd. 28. Nr. 3/5. — 3) Veröff. a. d. Geb. d. Med.-Verw. Bd. 15. H. 4. — 4) Ztschr. f. Hyg. Bd. 97. H. 1/2. — 5) Ztschr. f. Med.-Beamte. 1922.

Nr. 1. — 6) Centralbl. f. d. ges. Hyg. Bd. 3. H. 7. — 7) Arb. a. d. Kais. Ges.-Amte. Bd. 41. — 8) Med. Klin. 1922. Nr. 9. — 9) Bull. de l'acad. de méd. T. 87. 1922. — 10) Journ. des pract. 1922. Nr. 16. — 11) Journ. de méd. de Lyon. 1922. Nr. 50. — 12) Clinique. 1922. Nr. 9. — 13) Bull. méd. 1922. Nr. 19. — 14) Bull. de l'acad. de méd. 1922. Nr. 37. — 15) Paris méd. 1922. Nr. 4. u. Ann. d'hyg. publ. u. de méd. lég. T. 37. 1922. — 16) Kolle-Wassermann, Handb. d. path. Mikro. 3. Aufl. — 17) Der Unterleibstyphus. Wien u. Leipzig 1913. — 18) Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 90. H. 3. — 19) „Die Quellen in ihren Beziehungen zum Grundwasser und zum Typhus". Jena 1902. — 20) „Der Arzt". Sammlung sozial-psychol. Mon. Herausgeg. von Martin Buber. Frankf. a. M. — 21) Berl. klin. Wochenschr. 1892. Nr. 43. — 22) Arb. a. d. Med. Klin. Leipzig. H. 4. 1920. — 23) Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 81. H. 1. — 24) Monatsschr. f. öff. Gesundheitspfl. 1916. — 25) Arch. de l'Inst. Past. de l'Afr. du Nord. 1922. — 26) Ann. Past. 1919. — 27) ibid. 1922 u. Presse méd. 1922. — 28) Münch. med. Wochenschr. 1923. Nr. 19. — 29) Min.-Bl. f. Med.-Ang. Jahrg. 17. 1917 u. Jahrg. 19. 1919.

Nachdruck verboten.

Ueber den Einfluss der Paratyphaceen auf die Milchzuckervergärung durch B. coli.

[Aus der Bakteriologischen Abteilung des Rudolf Virchow-Krankenhauses in Berlin (Direktor: Dr. Kurt Meyer).]

Von Dr. **H. Mizuhara,** Osaka.

Kaum eine Familie der pathogenen Bakterien schien bis vor kurzem der Systematik solche Schwierigkeiten zu bieten wie die der Paratyphaceen, d. h. jener gramnegativen, Gelatine nicht verflüssigenden, Traubenzucker unter Gasbildung vergärenden, Milchzucker nicht angreifenden, beweglichen Stäbchen, die beim Menschen und den verschiedensten Tierarten vorzugsweise im Darmtraktus lokalisierte Infektionen hervorrufen.

Die Widersprüche in den Angaben der Literatur erklären sich zum Teil dadurch, daß man der Einteilung und Benennung bald nosologische Gesichtspunkte, bald serologisches Verhalten, bald kulturelle Merkmale, bald Herkunft zugrunde legte und sich dabei häufig nicht an ein Einteilungsprinzip hielt. Dazu kommt noch, daß in der Literatur der verschiedenen Länder die Namengebung nicht übereinstimmt. Endlich spielt aber auch die große Variabilität der Gruppe, die besonders in älteren Kulturen zur Geltung kommt, bei den widersprechenden Angaben verschiedener Autoren eine Rolle.

Im Laufe der letzten Jahre ist nun aber eine Reihe von Arbeiten erschienen, die die Aussicht auf eine systematische Ordnung der Paratyphaceen eröffnen. Es sind besonders die serologischen Methoden, die hier wesentliche Fortschritte gebracht haben, indem sie die einfache Agglutinationsprüfung durch das Absorptionsverfahren ergänzten, wobei die von Weil und Felix[1]) eingeführte Rezeptorenanalyse überraschende und für die Systematik sehr wertvolle Ergebnisse lieferte.

Am frühesten gelang die Abtrennung des Paratyphus A, der sich ja schon durch seine kulturellen Merkmale, dann aber auch durch

1) E. Weil und A. Felix, Wien. klin. Wochenschr. 1917. S. 1509.

sein agglutinatorisches Verhalten erheblich von den anderen Arten unterscheidet.

Eine Sonderstellung nimmt auch der B. enteritidis Gärtner ein. Zwar stimmt er in seinen kulturellen Eigenschaften mit dem Paratyphus B-Typus überein. Serologisch ist aber die Trennung leicht durchzuführen, da beide Typen nur schwache gegenseitige Mitagglutination zeigen, während andererseits die Gärtner-Gruppe durch ihre mit denen des Typhusbazillus identischen thermostabilen Rezeptoren charakterisiert ist.

Es bleiben nun noch die als Paratyphus B zusammengefaßten Arten, die bei den verschiedensten Tierarten vorkommen, und zwar nicht nur bei Erkrankungen des Darmkanals, sondern auch im Darminhalt gesunder Tiere. Bei ihnen galt lange Zeit eine weitere Differenzierung als nicht sicher durchführbar. Während einige Autoren mit einem bestimmten Stamm hergestellte Sera nur gegenüber einer gewissen Zahl von Stämmen wirksam befanden, glückte anderen Untersuchern eine solche Differenzierung nicht. Offenbar spielt die Individualität der Sera eine wichtige Rolle.

Am leichtesten gelang auf dem Wege der direkten Agglutinationsprüfung noch die Abtrennung der Suipestifer- oder Hogcholerastämme. Im allgemeinen werden durch Suipestifer-Sera menschliche Paratyphus B-Stämme nur schwach mitagglutiniert, und analog verhalten sich Paratyphus B-Sera gegenüber Suipestifer-Stämmen.

Innerhalb der menschlichen Paratyphusstämme ermöglicht erst das Absorptionsverfahren mit Sicherheit eine weitere Trennung, die gewissermaßen schon die klinische Beobachtung forderte, der es auffällig erscheinen mußte, daß derselbe Erreger zwei so verschiedene Krankheitsformen, wie den typhusähnlich verlaufenden Paratyphus einerseits, eine akute Nahrungsmittelvergiftung andererseits, hervorrufen sollte.

Zwar gelingt mit manchen schwach übergreifenden Seren schon bei direkter Agglutination eine Differenzierung zweier Typen, aber erst durch die Absättigung ist diese regelmäßig und mit Sicherheit möglich. Besonders frühzeitig wurde die Verschiedenheit der Typen in England erkannt. Bereits 1906 führte Boycott[1]) eine scharfe Trennung durch, die dann durch Bainbridge und O'Brien[2]) bestätigt wurde.

In Deutschland war die Kieler Schule [B. Fischer, Reiner Müller, Bitter[3])] schon seit langem für eine Trennung der echten Paratyphus- von den Fleischvergiftungsstämmen, die sie nach dem ersten beschriebenen Vertreter als B. breslavensis bezeichnet, eingetreten. Sie stützte sich außer auf klinische und epidemiologische Beobachtungen besonders auf Unterschiede im kulturellen Verhalten, auf die weiter unten noch eingegangen werden soll.

Manteufel und Beger[4]) konnten die Typentrennung dann auch durch Absättigungsversuche bestätigen.

---

1) A. E. Boycott, Journ. of Hyg. Vol. 6. 1906. p. 33.

2) F. A. Bainbridge, Journ. of Path. and Bact. Vol. 13. 1909. p. 443. — F. A. Bainbridge u. R. A. O'Brien, Journ. of Hyg. Vol. 11. 1911. p. 68.

3) Literatur bei L. Bitter, Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 85. 1920. S. 110.

4) P. Manteufel u. H. Beger, Ebenda. Abt. I. Orig. Bd. 87. 1921. S. 161.

Schiff[1]) zeigte mittels Rezeptorenanalyse, daß Paratyphus B- und Breslau-Bazillen gemeinsame stabile und labile Rezeptoren haben, außerdem aber noch spezifische labile Rezeptoren besitzen. Hierdurch fand der wechselnde Spezifitätsgrad der Sera seine Erklärung, der sich von dem schwankenden Gehalt an labilotropen und stabilotropen Agglutininen abhängig erwies.

Die Rezeptorenanalyse klärte dann auch weiter die Stellung der Suipestifer-Stämme. Es zeigte sich, daß deren stabile Rezeptoren spezifisch sind, während ein Teil ihrer labilen Rezeptoren mit den gemeinsamen labilen Rezeptoren der Paratyphus B- und Breslaubazillen identisch ist (F. Schiff).

Endlich konnten mittels Rezeptorenanalyse die im Osten während des Krieges von verschiedenen Autoren beobachteten Paratyphus β- oder C-Bazillen als serologisch den Suipestifer-Bazillen und speziell deren Untergruppe der Voldagsen-Gläßer-Bazillen sehr nahe verwandt erwiesen werden [Weil u. Felix[2]), Schiff].

Somit erscheint die serologische Differenzierung der verschiedenen Typen mit Hilfe des Absorptionsverfahrens und der Rezeptorenanalyse einwandfrei begründet. Aber auch in kultureller Beziehung sind im Laufe der Zeit eine Reihe von Merkmalen ermittelt worden, die eine Unterscheidung der verschiedenen Typen ermöglichen.

Auch hier gelingt die Identifizierung der typischen Suipestifer-Stämme am leichtesten. Im Gegensatz zu den übrigen Paratyphaceen greifen sie Arabinose und Dulcit nicht an [Krumwiede, Kohn und Valentine[3])], schwärzen Bleiacetatagar nicht durch H_2S-Bildung [Jordan und Victorson[4])] und reduzieren Fuchsin-Dextrose-Serumwasser nicht (Krumwiede, Kohn und Valentine). Die den Suipestifer-Stämmen nahestehenden Voldagsen- und Gläßer-Stämme sind außerdem dadurch gekennzeichnet, daß bei ihnen der Umschlag der Lackmusmolke von Rot in Blau meist ausbleibt, und daß auch die Gasbildung in Traubenzuckerbouillon schwach ist oder ganz fehlt.

Die Breslau-Bazillen, die in der ausländischen Literatur als B. Aertryck bezeichnet werden, unterscheiden sich von den übrigen Vertretern der Paratyphusgruppe durch das Fehlen der charakteristischen Schleimwallbildung, die an isolierten Kolonien bei Temperaturwechsel auftritt. Auch fehlt ihren Kolonien die von Reiner Müller[5]) beschriebene Kröpfchenbildung auf Rhamnose-Agar. Nach den Erfahrungen unseres Laboratoriums scheint dieses Verhalten durchaus konstant zu sein und eine Idenitfizierung der Breslau-Bazillen ohne Schwierigkeiten zu ermöglichen.

Die Paratyphus β- oder C-Bazillen stimmen trotz ihrer engen serologischen Beziehungen zu der Suipestifer-Gruppe kulturell völlig mit den echten Paratyphus B-Bazillen überein.

---

1) F. Schiff, Zeitschr. f. Immun.-Forsch. Orig. Bd. 33. 1922. S. 511; Bd. 35. 1922. S. 268.

2) E. Weil u. A. Felix, Zeitschr. f. Immun.-Forsch. Orig. Bd. 29. 1920. S. 24.

3) C. Krumwiede jun., L. A. Kohn u. E. Valentine, Journ. of med. Res. Vol. 38. 1918. p. 89.

4) E. O. Jordan u. R. Victorson, Journ. of infect. diseas. Vol. 21. 1917. p. 559.

5) Reiner Müller, Dtsch. med. Wochenschr. 1910. S. 2387.

Wir sehen somit, daß auch auf Grund der Kultureigenschaft eine Unterscheidung der verschiedenen Typen der Paratyphaceen im allgemeinen möglich sein wird. Immerhin muß die Aufstellung weiterer Differenzierungsmerkmale erwünscht sein, und so darf eine vor einiger Zeit erschienene Mitteilung von Theobald und Dorothea Smith[1]) besondere Aufmerksamkeit beanspruchen.

Diese Autoren beobachteten, daß einzelne Mitglieder der Paratyphaceenfamilie eine Hemmung der Milchzuckervergärung durch B. coli in dem Sinne bewirkten, daß zwar Säurebildung eintrat, die Gasbildung aber ausblieb. Die Hemmung kam nur zustande, wenn die Beimpfung der Milchzuckerbouillon mit den Paratyphusbazillen der Coli-Beimpfung zeitlich vorausging, wobei sich ein Zeitraum von 4 Tagen als optimal erwies, während später die Hemmung sich wieder abschwächte. Berkefeld-Filtrate der Kulturen übten keine Hemmung aus; durch Behandlung mit Kaolin wurde das hemmende Prinzip entfernt. Durch stärkeres Erhitzen wurde es zerstört; bei 35 Min. langer Erhitzung auf 62° trat nur eine mäßige Abschwächung ein, während die Bazillen selbst abgetötet wurden. Die Autoren sprechen die Vermutung aus, daß das hemmende Prinzip ein Stoffwechselprodukt, vielleicht ein Enzym, sei.

Sie beobachteten die Hemmungswirkung bei Paratyphus A und B von Schottmüller, bei Paratyphus C von Hirschfeld = Paratyphus β, bei Paratyphusbazillen vom Kalb, bei Ratten-, Schweine-, Ziesel-, Hunde-, Meerschweinchen- und Mäusetyphusbazillen und bei B. enteritidis Gärtner. Von den tierischen Typhus- und Paratyphusbazillen sind nach den Untersuchungen von Ten Broeck[2]) und M. Fischer[3]) die meisten als Breslau-Bazillen anzusprechen.

Im Gegensatz hierzu übten alle untersuchten Hog-Cholera- = Suipestifer-Stämme, auch die vom Typus Voldagsen, in jungen Kulturen nicht die geringste Hemmungswirkung auf die Gärtätigkeit des Coli-Bazillus aus, vielmehr war hier erst in 18 Tage alten Kulturen die Gasbildung unbedeutend.

Die Forscher machten diese Feststellungen mit 2 Coli-Stämmen, die aus den Organen von Kälbern stammten, und erörtern selbst die Möglichkeit, daß nicht alle Coli-Stämme das gleiche Verhalten zeigen werden.

Diese interessanten Befunde haben, soweit wir die Literatur übersehen, bisher nur von einer Seite eine Nachprüfung erfahren. Besson und de Lavergne[4]) zogen gelegentlich einer Untersuchung über die Differenzierung des aus menschlichen Paratyphusfällen durch Blutkultur gewonnenen echten Paratyphus B-Stämme und der aus Gastroenteritis-Stühlen gezüchteten Aertryck-Stämme, die übrigens auch ihnen mittels des Agglutinin-Absättigungsverfahrens einwandfrei gelang, auch die Smithsche Reaktion heran. Sie fanden, daß die echten Paratyphusstämme die Milchzuckergärung durch Coli hemmten, während die Aertryck-Stämme keine merkbare Hemmung ausübten. Bes-

1) Theob. and Doroth. Smith, Journ. geneal. Physiol. Vol. 3. 1920. p. 21.
2) C. Ten Broeck, Journ. exper. Med. Vol. 32. 1920. p. 33.
3) M. Fischer, Zeitschr. f. Immun.-Forsch. Orig. Bd. 38. 1923. S. 165.
4) A. Besson et V. de Lavergne, Annal. Inst. Pasteur. T. 36. 1922. p. 502.

son und de Lavergne sehen in diesem Ergebnis überraschenderweise eine Bestätigung der Smithschen Beobachtung, während in Wirklichkeit, wie oben angeführt, Th. und D. Smith auch bei den mit den Aertryck-Breslau-Bazillen identischen tierischen Paratyphusstämmen die gleiche Hemmung wie bei den echten Paratyphusstämmen beobachtet hatten.

Die Befunde von Besson und de Lavergne stehen also in vollem Widerspruch zu denen der amerikanischen Forscher. Ueber die Zahl der untersuchten Stämme machen Besson und de Lavergne keine Angaben. Man könnte daran denken, daß ihre Gastroenteritisstämme zufällig Suipestifer-Bazillen waren. Dagegen spricht aber, abgesehen von dem Ergebnis der Agglutinationsversuche, ihre Bemerkung, daß ihre Stämme die oben erwähnten, von Jordan und Victorson sowie von Krumwiede, Kohn und Valentine angegebenen kulturellen Merkmale der Suipestifer-Bazillen nicht zeigten. Ohne Zweifel haben die Autoren mit Breslau-Bazillen gearbeitet. Ihr Mißverständnis erklärt sich dadurch, daß für sie Aertryck- und Suipestifer-Bazillen identisch sind, eine Namensgebung, die sie wohl von Boycott und Bainbridge übernommen haben.

Angesichts der Widersprüche zwischen den amerikanischen und den französischen Autoren schien eine Wiederholung des Smithschen Versuches an einer größeren Zahl von Vertretern der Paratyphusfamilie erwünscht, um über die differentialdiagnostische Bedeutung des Phänomens Klarheit zu gewinnen. Wir führten diese Untersuchung an 8 echten Paratyphus B-Stämmen, 9 Breslau-Stämmen, 1 Paratyphus β-Stamm, 1 Suipestifer- und 1 Voldagsen-Stamm durch. Für die Ueberlassung eines Teiles der Stämme sind wir den Herren Prof. Bitter, Dr. Schiff und Dr. Schnabel zu Dank verpflichtet.

Die Stämme waren kulturell und serologisch identifiziert. Wir beimpften mit ihnen Durhamsche Gärungsröhrchen, die 1 Proz. Milchzuckerbouillon enthielten. Die Nachimpfung mit Coli erfolgte nach dreitägiger Bebrütung von 24stünd. Bouillonkulturen aus. Nachdem wir bei einem Coli-Stamm nur schwache Hemmung der Vergärung beobachtet hatten, wurden mehrere, im ganzen 8 Stämme zur Prüfung herangezogen. Von ihnen waren 5 (Großmann, Mann, Hirschfeld, Weber, Schmidt) aus Urin, 1 (Wachtel) aus Stuhl gezüchtet, 1 (Milosch) stammte aus einem Sputum, 1 (Neuendorf) von einer Peritonitis. Die Stämme Hirschfeld und Weber bewirkten auf der Blutplatte Hämolyse. Stamm Wachtel und Milosch vergoren Saccharose unter Gasbildung, waren also als B. coli communior nach der amerikanischen Nomenklatur anzusprechen.

Um für den Grad der Gärungshemmung einen quantitativen Ausdruck zu gewinnen, maßen wir die Höhe der Gassäule. Natürlich erhebt diese Bestimmung keinen Anspruch auf Exaktheit, zumal wir nicht einmal die Verjüngung des Gärröhrchens nach oben hin berücksichtigten; für unsere Zwecke glaubten wir uns aber mit dieser einfachen Methode begnügen zu können. Die Ablesung geschah alle 24 Std. Da nach 5 Tagen die Gasmenge nur ausnahmsweise noch Veränderungen erfuhr, ist in die Tabelle nur der Befund nach 1-, 3- und 5×24stünd. Bebrütung aufgenommen. Bei einigen Stämmen wurde als erste Ablesung die nach 3×24 Std. protokolliert. Aus äußeren Gründen wurde ein Teil der Breslau- und die Voldagsen- und Suipestifer-Stämme nicht gleichzeitig mit der Mehrzahl der Stämme und

zum Teil mit anderen Coli-Stämmen geprüft. Die nachfolgende Tabelle I läßt das Ergebnis der Prüfung erkennen. Die Zahlen bedeuten die Höhe der Gassäule in Millimetern nach 1,3 m in 5×24 Std.

Tabelle I.

Coli-Stamm:	Gross-mann	Mann	Hirsch-feld	Wachtel	Weber	Mi-losch	Neuen-dorf	Schmitz
Kontrolle	40, 40, 40	36, 36, 36	32, 32, 32	34, 34, 34	35, 35, 35	7, 20, 22	39, 40, 40	10, 17, 17
25	Spur, 3, 3	0, 0, 2	— 20, 20	3, 5, 5	7, 30, 30	0, 0, 2	—	—
27	0, 0, 0	0, 2, 2	— 25, 25	2, 2, 2	1, 30, 30	2, 2, 2	—	—
1350	Spur, 2, 4	Spur, 12, 18	— 19, 19	5, 9, 9	4, 31, 31	0, 0, 19	—	—
2251	0, 0, 0	0, 3, 3	— 19, 19	0, 0, 0	2, 24, 24	0, 0, 3	—	—
1874	Spur, 2, 4	Spur, 5, 7	— 23, 23	2, 5, 5	3, 33, 33	0, 0, 0	—	—
2072	0, 0, 0	Spur, 3, 4	— 19, 19	0, 0, 1	2, 27, 27	0, 0, 0	—	—
1267	— 3, 8	— 5, 22	— 12, 30	2, 5, 5	5, 32, 32	0, 0, 4	—	—
Amerika	2, 2, 4	3, 10, 10	— 20, 20	0, 1, 1	10, 20, 20	0, 0, 5	—	—
26	0, 0, 0	0, 3, 5	— 14, 14	0, 2, 2	0, 30, 30	0, 0, 5	—	—
28	0, 0, 0	0, 4, 4	— 12, 12	0, 2, 2	5, 29, 29	0, 0, 0	—	—
1298	— 5, 10	— 5, 18	— 12, 30	5, 8, 8	5. 19, 21	0, 2, 5	—	—
5	—	—	14, 17, 18	—	6, 18, 18	—	0, 8, 9	1, 3, 3
9	—	—	8, 15, 15	—	7, 19, 19	—	5, 14, 14	0, 4, 4
11	—	—	13, 17, 17	—	—	—	3, 16, 18	13, 14, 14
14	—	—	10, 17, 17	—	17, 22, 22	—	13, 18, 18	8, 8, 8
Aertryck	0, 0, 0	0, 5, 8	— 7, 7	4, 7, 7	0, 31, 31	0, 0, 2	—	—
Jacobs	0, 0, 0	0, 5, 7	— 7, 7	2, 5, 5	7, 33, 33	0, 0, 7	—	—
$\beta_2 = C$	— 1, 4	— 1, 4	— 2, 15	0, 4, 4	11, 33, 33	0, 0, 0	—	—
Suipestifer	—	—	9, 27, 28	—	13, 26, 26	—	0, 9, 10	1, 3, 3
Voldagsen	—	—	3, 12, 17	—	45, 39, 36	—	0, 5, 6	1, 5, 6

Wie sich aus der Tabelle ergibt, üben die Paratyphaceen in der Tat entsprechend den Angaben von D. und Th. Smith eine mehr oder weniger starke Hemmung auf die Gasbildung bei der Milchzuckervergärung durch Coli-Bazillen aus. Am deutlichsten erkennbar ist sie am 1. Tage, wo vielfach überhaupt keine Gasbildung eingetreten ist. In seltenen Fällen bleibt diese auch weiterhin aus, meist tritt sie aber an den folgenden Tagen doch noch ein oder nimmt, wenn am 1. Tage schon vorhanden, noch weiter zu, jedoch, wie oben schon erwähnt, nur ausnahmsweise über den 5. Tag hinaus. Niemals wird die Gasbildung so stark wie bei den mit Coli allein beimpften Kontrollröhrchen. Wie die amerikanischen Autoren festgestellt haben, beruht diese Erscheinung keineswegs etwa darauf, daß ein Teil des Milchzuckers unzersetzt bleibt; denn die Säurebildung wird nicht beeinflußt, und offenbar erfolgt der Abbau des Milchzuckers nur auf anderem Wege als normalerweise.

Wie schon D. und Th. Smith vermutet hatten, machen sich erhebliche Unterschiede in der Hemmung der Gasbildung zwischen den verschiedenen Coli-Stämmen geltend. Am stärksten ausgesprochen ist sie bei Stamm Milosch. Da dieser Stamm an sich weniger Gas bildet als die übrigen, könnte man an einen Zusammenhang zwischen Gärungsenergie und Hemmbarkeit denken. Dem widerspricht aber der Befund bei Stamm Großmann, der die stärkste Gasbildung unter allen unseren Stämmen zeigt, die aber kaum weniger durch die Paratyphusstämme gehemmt wird als die des Stammes Milosch. Der Befund bei Stamm Großmann schließt auch aus, daß die Rohrzucker vergärenden Stämme (Milosch, Wachtel, die beiden

Stämme von D. und Th. Smith) besonders leicht gehemmt werden. Ob die verhältnismäßig geringe Beeinflußbarkeit der Stämme Hirschfeld und Weber mit deren hämolytischen Eigenschaften zusammenhängt, lassen wir dahingestellt.

Was nun Unterschiede in der Gärungshemmung zwischen den einzelnen Typen der Paratyphaceen betrifft, so können wir die Angabe von D. und Th. Smith, daß die Hog-Cholera- oder Suipestifer-Stämme die Gasbildung völlig unbeeinflußt lassen, für die von uns untersuchten Stämme nicht bestätigen. Allerdings konnten wir nur einen Suipestifer- und einen Voldagsen-Stamm prüfen, aber bei diesen war die Hemmung sogar auffallend stark. Wir glauben daher, daß die von den amerikanischen Autoren beobachtete völlige Einflußlosigkeit der Suipestifer-Stämme auf die Gasbildung zum mindesten keine gesetzmäßige Erscheinung, sondern von der Individualität, sei es der Suipestifer-, sei es der Coli-Stämme, abhängig ist.

Zwischen den Paratyphus B- und den Breslaustämmen konnten wir nicht den geringsten Unterschied bezüglich ihrer Hemmungswirkung auf die Gasbildung feststellen. Wir stimmen hierin ganz mit den amerikanischen Forschern überein, während wir uns die Angabe von Besson und de Lavergne, die bei ihren Aertryck-Stämmen keine Hemmungswirkung gesehen haben wollen, nicht zu erklären vermögen.

Auf die Ursachen und Bedingungen des Smithschen Phänomens wollen wir hier nicht eingehen, sondern nur die Frage erörtern, ob etwa die Hemmung mit den verwandtschaftlichen Beziehungen zwischen den Paratyphaceen und dem Coli-Bazillus in Beziehung steht.

Bekanntlich messen die französischen Bakteriologen der spezifischen Vakzination des Nährbodens, d. h. der Erscheinung, daß ein Nährboden, auf dem eine Bakterienart mehrere Tage gewachsen ist, sich nach Abwaschen der Kulturmasse gegenüber einer zweiten Beimpfung mit derselben Art refraktär verhält, erhebliche diagnostische Bedeutung bei. Auch Besson und de Lavergne haben auf diese Weise die Beziehung zwischen den Paratyphaceen und Coli-Bazillen geprüft und geben an, daß sich Aertryck- und Coli-Bazillen, nicht aber Paratyphus- und Coli-Bazillen, gegenseitig hemmen, ein Verhalten, das ihren Befunden bei der Hemmung der Gasbildung entspricht.

Wir glaubten, diese Frage dadurch entscheiden zu können, daß wir den Einfluß der Paratyphaceen auf die Gasbildung durch Milchzuckervergärer aus verwandtschaftlich nicht zu ihnen in Beziehung stehenden Familien prüften. Wir wählten hierfür einen Proteus-Stamm und einen Friedländer-Stamm. Die Versuchsanordnung war die gleiche wie früher. Das Ergebnis geht aus Tabelle 2 hervor.

Tabelle 2.

	Proteus	Friedländer
Kontrolle	27, 32, 32	37, 50, 52
27	0, 4, 6	3, 40, 40
Amerika	0, 8, 10	4, 28, 20
28	0, 9, 16	0, 8, 13
Jacobs	0, 6, 14	0, 10, 15
Aertryck	0, 8, 14	0, 8, 13

Wie man sieht, kommt die Hemmungswirkung der Paratyphaceen auf die Gasbildung der im System fernstehenden Arten in gleicher Weise zum Ausdruck wie gegenüber den näher verwandten Coli-Stämmen. Die Deutung des Phänomens als Verwandtschaftsreaktion kommt also nicht in Frage.

Zusammenfassung.

Die Angabe von D. und Th. Smith, daß die Paratyphaceen die Gasbildung bei der Milchzuckervergärung durch B. coli hemmen, konnte in gewissem Umfange bestätigt werden; ein Unterschied zwischen den Suiseptifer-Stämmen und den anderen Vertretern der Gruppe war jedoch nicht festzustellen. Ebensowenig war entgegen den Angaben von Besson und de Lavergne ein Unterschied zwischen echten Paratyphus B- und Breslau-Bazillen nachweisbar. Eine völlige Unterdrückung der Gasbildung wurde nur ausnahmsweise beobachtet. Die Hemmungswirkung war gegenüber verschiedenen Coli-Stämmen individuell verschieden.

Nachdruck verboten.

Untersuchungen zur Einteilung der diphtheroiden Bakterien[1]).

[Aus dem Hygienischen Institut der Universität Köln (Direktor: Prof. Reiner Müller).]

Von Privatdozent Dr. **Karl L. Pesch.**

v. Behring sagt 1901 in v. Colers Handbuch, daß nur die kleinen Geister in der Bakteriologie sich noch mit Untersuchungen über die Systematik der Diphtheriebakterien abgäben. Bevor ich also die Resultate meiner mehrjährigen Arbeit über die Systematik der diphtheroiden Bakterien darlege, halte ich es für notwendig, die Gründe, die mich zu diesen Untersuchungen führten, kurz auseinanderzusetzen.

Bekanntlich stimmen die klinische Diphtherie-Diagnose und der bakteriologische Befund nicht immer überein. Es sollte jede bakteriologische Untersuchungsanstalt gerade diesen Fällen nachgehen; denn manche dieser Nichtübereinstimmungen sind als Unvollkommenheiten der bakteriologischen Untersuchungsart anzusprechen. Besonders wichtig ist die Feststellung, ob nicht doch harmlose Schleimhautbewohner als echte Diphtheriebakterien angesehen worden sind, oder umgekehrt.

Ferner: in der Kriegs- und Nachkriegszeit mehrten sich die Fälle von sogenannter Wunddiphtherie; besonders eine Reihe von Arbeiten von chirurgischer Seite ließen es angebracht erscheinen, wieder einmal,

1) **Nach einem am 2. Nov. in der wissenschaftlichen Gesellschaft der Universität Köln gehaltenen Vortrage.**

unter Zuhilfenahme aller bakteriologischen Untersuchungsmethoden, festzustellen, ob wir in der Lage sind, die „echten" Loefflerschen DiB. von harmlosen Vertretern der Di-Gruppe sicher zu unterscheiden.

Und noch ein anderer Grund bewog mich zu den Untersuchungen. Bekanntlich werden bei der Di-Diagnose die Kulturen mit der Gram- und Neißer-Färbung untersucht; unter Umständen wird die Tierpathogenität der reingezüchteten verdächtigen Stämme geprüft. Es würde eine große Ersparnis und ein Fortschritt sein, wenn es gelänge, mikroskopische und kulturelle Eigenschaften der DiB. zu finden, die es uns gestatteten, den Tierversuch bei der Di-Diagnose ganz auszuschalten.

Letztens: Zu diesen mehr praktischen Gründen für meine Untersuchungen kam noch der, daß ich in der Literatur keine mich befriedigende und genügend eingehende Systematik sämtlicher hierhin gehörenden, bei den verschiedensten Untersuchungen von mir gefundenen Stämme fand. Zwar geben Lehmann und Neumann eine Uebersicht über die Corynebakterien, doch sind gerade in der letzten Zeit Stämme isoliert worden, z. B. die Paradiphtheriebakterien Lubinskis, die sich nicht ohne weiteres in die Systematik dieser Autoren einreihen lassen. Letzten Endes führen ja alle solche Untersuchungen zu der Frage der Mutabilität von Bakterien; ich hoffe, später einmal meine Stellungnahme zu dieser Frage und das Ergebnis meiner dahin gehörigen Untersuchungen bringen zu dürfen. In der Frage der Wandlungsfähigkeit der Diphtheroideen stehen sich 2 Gruppen von Untersuchern gegenüber, die man als Unitarier und Dualisten zu bezeichnen pflegt, wobei die extremen Vertreter der Dualisten-Gruppe an der Artkonstanz der einzelnen Vertreter dieser Gruppe festhalten, also Uebergänge leugnen, während die Unitarier den Uebergang von echten DiB. in Pseudo-DiB., Xerose-Bakterien oder gar saprophytische Diphtheroideen annehmen und umgekehrt. So stellt z. B. Riebold in einem kürzlich erschienenen Fortbildungsvortrag folgenden Leitsatz auf: „Der serologischen und bakteriologischen Diphtherieforschung ist der Nachweis gelungen, daß die Loefflerschen Diphtheriebazillen identisch sind mit den Pseudo-Diphtheriebazillen und anderen ähnlichen Keimen." Solche unbewiesenen Behauptungen, für einen größeren Aerztekreis berechnet, sind m. E. dazu angetan, die Meinung über das Diphtherieproblem unheilvoll zu verwirren.

Ich untersuchte zunächst 30 Stämme, und zwar 3 alte, sicher pathogene Laboratoriumstämme (Nr. 1, 2, 3) und 27 Stämme, die ich aus den dem Untersuchungsamt zugeschickten Rachen- und Nasenabstrichen rein gezüchtet hatte, wobei ich alle diejenigen Bakterien zur Untersuchung heranzog, die sich durch Form, Lagerung, färberisches Verhalten und Unbeweglichkeit als zur Di-Gruppe zugehörig kennzeichneten. 11 von den 27 Stämmen stammten von klinisch typischer Rachendiphtherie (Nr. 6, 12, 13, 19, 21, 22, 23, 25, 26, 28, 29), 2 Stämme von Rachendiphtherie-Genesenen (Nr. 24, 30), 3 von Rachenabstrichen Gesunder aus der Umgebung von Kranken (Nr. 17, 20, 27), 3 aus Nasenabstrichen typischer membranöser Nasendiphtherie (Nr. 4, 5, 14), bei 3 Stämmen handelte es sich klinisch um unspezifisch seröse Katarrhe (Nr. 8, 11, 16), 5 Stämme wurden aus gesunden Nasen (Nr. 7, 9, 10, 15, 18) isoliert.

Zuerst prüfte ich den Einfluß verschiedener Nährböden auf Stäbchenform, Koloniengröße und Polkörnchenbildung. Ideal wäre ein Nähr-

boden, auf dem die echten DiB. des Abstrichs üppig, von Begleitbakterien unbehindert wüchsen und eine auffallende Kolonienform zeigen; ferner müßten sich auf ihm die echten DiB. durch besondere Form und Polkörnchenbildung von ihnen ähnlichen apathogenen Diphtheroideen leicht unterscheiden lassen.

Als Nährböden verwandte ich 1) Ascitesagar; 1 Teil Ascites und 2 Teile $2^1/_2$proz. Plazentaagar, 2) den von K. Klein für die Di-Diagnose angegebenen Alkaliserumagar, 3) Loeffler-Serum in der bekannten Zusammensetzung; als Serum diente im allgemeinen Pferdeserum, vereinzelt auch Rinderserum; die Bouillon wurde aus Plazenta mit 10 Proz. flüssigem Pepton hergestellt. 4) Blutagar mit Zusatz von etwa 5 Proz. frischem Hammelblut, 5) Levinthal-Agar (nach Originalvorschrift). Als Grundsubstanz wiederum der auch zu allen anderen Nährböden verwandte $2^1/_2$-proz. Plazentaagar mit 10 Proz. flüssigem Pepton der Firma Gans. Als Blutzusatz diente defibriniertes Hammelblut.

Die Aussaaten auf diese Nährböden wurden von 24 Std. alten Ascitesagar oder Loeffler-Serumkulturen gemacht, so daß stets die gleichen Versuchsbedingungen gegeben waren. Am anderen Tage, wenn nötig, auch nach 48 und 72 Std., wurden die gewachsenen Kulturen mit Hilfe der Gram- und Neißer-Färbung untersucht. Die Temperatur des Brutschranks schwankte zwischen 35 und 37°.

I. A. Nährboden und Aussehen der Stäbchen. Auf Grund der morphologischen und färberischen Eigenschaften konnte ich nun ohne weiteres die 30 Stämme in 3 Gruppen einteilen. Ich fand zunächst, daß die Stäbchenlänge von der Art des Nährbodens stark abhängig ist. Während auf Ascitesagar die Stäbchen der einzelnen Stämme nur ganz geringe Größenunterschiede zeigen, sind diese auf Loeffler-Serum und Blutagar sehr stark. Gestalt und Größe sind also zur Einteilung der Di-Gruppe nur zu benutzen mit Hilfe von Nährböden, auf denen sich erhebliche Formunterschiede zeigen. So konnte ich auf Loeffler-Serum und Blutagar nach Größe und Form der gefärbten Bakterien meine 30 Stämme in 3 Gruppen ordnen:

Gruppe I. Lange, schlanke, etwas gekrümmte Stäbchen, an den Enden zugespitzt oder keulenförmig, Lagerung fingerförmig oder fächerförmig; 19 Stämme (Nr. 1, 2, 3, 4, 5, 6, 12, 13, 14, 19, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 28, 29, 30).

Gruppe II. Mittellange Stäbchen, etwas dickere, plumpere Form, nicht gekrümmt, an den Enden zugespitzt, Lagerung ebenfalls fingerfächerförmig (Stämme Nr. 7, 8, 15, 16, 18, 20).

Gruppe III. Kurze, plumpe, mehr keilförmige Stäbchen, oft etwas oval geformt, vereinzelt mit den Enden zusammenliegend; 5 Stämme (Nr. 9, 10, 11, 17, 27).

Eine Sonderstellung für die Beziehungen zwischen Nährböden und Bakterienform nimmt der Levinthal-Agar ein; denn auf ihm neigen alle Stämme der 1. Gruppe dazu, ganz atypische Formen, sogenannte Involutionsformen, zu bilden. Wir finden auf ihm kurze, fast kokkenartige Gebilde, die wir sonst niemals als echte DiB. ansprechen würden, neben den bekannten langen, an einem Ende kolbig aufgetriebenen Keulenformen. Im Gegensatz dazu zeigen die Bakterien der 2. und 3. Gruppe auf Levinthal-Agar durchaus normale Formen, die gleichen also, wie auf den anderen Nährböden.

I. B. Nährböden und Aussehen der Kolonien. Das Kolonienwachstum sowohl der einzelnen Stämme auf verschiedenen Nähr-

böden, als auch der untersuchten 30 Stämme untereinander, war sehr verschieden. Das üppigste Wachstum sah ich auf Ascitesagar und Loeffler-Serum, auf denen alle 30 Stämme gleich gut wuchsen. Es lassen sich also auf diesen Nährböden die 3 Gruppen, die ich auf Grund der Formverschiedenheit der Stäbchen aufstellen konnte, im Kolonienwachstum nicht unterscheiden. Dies ging schon besser auf dem Kleinschen, am besten aber auf Levinthal-Agar. Hier zeigte ein Teil der Stämme nach 24 Std. Brutschrankaufenthalt nur ein ganz schwaches Wachstum, und zwar waren das alle 19 Stämme meiner I. Gruppe. Ein anderer Teil zeigte gutes, aber nicht sehr üppiges Wachstum; das waren die 6 Stämme der II. Gruppe, während die 5 Stämme der III. Gruppe in dieser Zeit recht stark gewachsen waren.

Noch deutlichere Gruppenunterschiede des Wachstums zeigte der Blutagar, wo nicht nur die 2 einzelnen Gruppen verschieden stark wuchsen, sondern sie auch Farbenunterschiede der Kolonien zeigten. Ein Teil der Stämme wuchs zart und farblos, das waren die Vertreter der I. Gruppe. Ihre Kolonien sehen auf dem roten Untergrunde tautropfenähnlich, klar und durchsichtig aus. Die II. Gruppe wächst auf Blutagar ziemlich stark, wobei die Kulturen besonders an den Stellen mit dichten Kolonienrasen weißlich sind, was nach 48 und 72 Std. Brutschrankaufenthalt noch auffälliger ist. Die Stämme der III. Gruppe waren schon über Nacht in dicken, üppigen, saftig-weißen Kolonien gewachsen. Bei den 3 Gruppen ist dieser Unterschied des Wachstums auf Blutagar (ob Hammel-, Ziegen- oder Menschenblutagar, bleibt gleich) in Koloniengröße und -farbe so auffallend, daß man den Eindruck hat, ganz verschiedene Bakterienarten vor sich zu haben, was ja auch der Fall ist.

I. C. Nährboden und Polkörnchenbildung. Die dritte Frage war die, inwieweit die Bildung oder wenigstens Färbbarkeit der sogenannten Polkörnchen vom Nährboden abhängig ist. Unter den 30 Stämmen war kein einziger, der nicht auf dem einen oder anderen der 5 Nährböden gelegentlich, wenn auch schwach, so doch deutliche Polkörnchen gezeigt hätte. Auch in den wohl im allgemeinen als negativ zu bezeichnenden Präparaten waren bei längerem Suchen und genauem Zusehen doch ganz vereinzelte feine Polkörnchen zu finden. Andererseits waren in den Präparaten mit äußerst starker Polkörnchenbildung auch stets mehr oder weniger reichlich Stäbchen ohne eine Spur von Polkörnchen zu sehen. So sind bei der Polkörnchenfärbung der 30 Stämme alle Uebergänge vom negativen bis zum stark positiven Befunde zu erheben. Wohl war die Neigung zur Polkörnchenbildung oder -färbbarkeit bei den 30 Stämmen verschieden stark. Am stärksten war sie in der 1. Gruppe, am schwächsten bei der 2. Gruppe; die 3. Gruppe steht etwa in der Mitte, indem sie das eine Mal negativ, das andere Mal mehr oder weniger stark positive Neißer-Färbung zeigte. Trotz dieser Einschränkung kann selbstverständlich eine starke Polkörnchenbildung auf bestimmten Nährböden für die bakteriologische Di-Diagnose eine gewisse Bedeutung erhalten.

Welcher Nährboden ist für die Polkörnchenbildung am günstigsten? Auf Ascitesagar zeigten alle 30 Stämme nur sehr schlecht Polkörnchen; auch auf dem Kleinschen Nährboden entwickeln sie sich nur mäßig. Ganz anders verhielten sich die Stämme auf Loeffler-Serum und Blutagar; und zwar bildeten alle Stämme der 1. Gruppe sehr reichlich Polkörnchen, während diese bei der 3. Gruppe viel schwächer und un-

regelmäßiger, bei der 2. Gruppe fast gar nicht sichtbar waren. Der Levinthal-Agar nimmt auch in bezug auf die Polkörnchen eine Sonderstellung ein: alle 10 Stämme der 1. Gruppe, die ja, wie ich sagte, auf ihm nur sehr schwach gewachsen waren, und die bei der Gram-Färbung reichlich Involutionsformen zeigten, hatten hier übermäßig stark ausgebildete Polkörnchen. Man sieht in diesen Präparaten viele, oft absonderlich geformte, sehr große, schwarze Klumpen, wobei gelegentlich von einem Bakterienleib überhaupt nichts mehr zu sehen ist. Es sind Bilder ähnlich denen von Dale und Trautmann bei 5 virulenten, schwach wachsenden DiB.-Stämmen beschriebenen. Alle meine anderen 11 Stämme (2. und 3. Gruppe), die auf dem Levinthal-Agar normales Wachstum zeigten, haben hier eine Polkörnchenbildung wie auf den anderen Nährböden.

Zusammenfassend kann ich also sagen, daß sich die gewählten 30 Stämme nach ihrem Verhalten auf den 5 Nährböden auf Grund ihrer verschiedenen Stäbchenform, dem Aussehen der Kolonien und der Polkörnchenbildung in 3 Gruppen einteilen lassen (Tabelle I).

Tabelle I.

A) Einfluß des Nährbodens auf die Gestalt der Stäbchen.

		Ascites-agar	Kleinscher Agar	Loeffler-Serum	Blut-agar	Levinthal-Agar
Gruppe	I	mittellang	lang	sehr lang, schlank	lang, schlank	lang bis kurz
Gruppe	II	mittel	mittel	mittel	mittel	mittel
Gruppe	III	mittelkurz	kurz	kurz	kurz	kurz

B) Einfluß des Nährbodens auf Größe und Farbe der Kolonien.

Gruppe	I	+++	++	+++	+ klar	±
Gruppe	II	+++	++	+++	++ weißlich	++
Gruppe	III	+++	+++	+++	+++ weiß	+++

C) Einfluß des Nährbodens auf die Polkörnchenbildung.

Gruppe	I	±	+	+++	+++	+++ atypisch
Gruppe	II	—?	—	—	±	—?
Gruppe	III	±?	±	± bis ++	±	±?

Gruppe I. Lange, schlanke Bakterien, an den Enden zugespitzt, auf Blutagar mäßig stark in farblosen Kolonien wachsend, mit erheblicher Neigung zur Polkörnchenbildung.

Gruppe II. Mittellange Stäbchen von gleichmäßiger Form, an den Enden abgestumpft, Wachstum auf Blutagar mittelstark, Kulturrasen weißlich. Neigung zur Polkörnchenbildung sehr gering.

Gruppe III. Kurze, plumpe, keilförmige Stäbchen, auf Blutagar sehr üppig in saftig weißen Kolonien wachsend, Polkörnchenbildung stark schwankend, im allgemeinen stärker als bei der 2. Gruppe.

II. Tierversuche.

Die nächste Frage war die: Welche von den 30 Stämmen sind pathogen und welche nicht? Die bekannteste Pathogenitätsprüfung für DiB. ist wohl die subkutane Einspritzung von lebenden DiB. bei Meerschweinchen, oder aber von Di-Toxin aus älteren DiB.-Bouillonkulturen. Die Römersche Intrakutanmethode, für die Auswertung von Di-Toxin und Antitoxin wohl geeignet, hat sich für die Pathogenitätsprüfung von DiB. nicht eingebürgert.

Ich wählte zunächst auch die 1. Methode, indem ich 30 mittelgroßen Tieren 1 ccm einer 24stünd. Bouillonkultur am Brustbein unter die Haut spritzte. Wie Tabelle II zeigt, erwiesen sich zunächst 12

Tabelle II.

Pathogenitätsprüfung: subkutan lebende Bakterien.

Stamm	Bouillon 1 ccm	Ascitesagar 1 Oese	Loeffler-Serum 1 Oese	Loeffler-Serum 3 Oesen	Stamm	Bouillon 1 ccm	Ascitesagar 1 Oese	Loeffler-Serum 1 Oese	Loeffler-Serum 3 Oesen
1	+	.	.	.	29	+	.	.	.
2	+	.	.	.	30	—	+	.	.
3	+	.	.	.					
4	—	+	.	.			Gruppe II.		
5	+	.	.	.	7	—	—	—	—
6	+	.	.	.	8	—	—	—	—
12	+	.	.	.	15	—	—	—	—
13	—	—	+	.	16	—	—	—	—
14	+	.	.	.	18	—	—	—	—
19	+	.	.	.	20	—	—	—	—
21	+	.	.						
22	—	+	.	.			Gruppe III.		
23	+	.	.		9	—	—	—	—
24	—	—	—	+	10	—	—	—	—
25	+	.	.	.	11	—	—	—	—
26	—	—	+	.	17	—	—	—	—
28	—	—	+	.	27	—	—	—	—

von den 30 Stämmen als pathogen. Der Sektionsbefund bei allen eingegangenen Tieren war der gewöhnliche: sulziges Oedem an der Einspritzungsstelle, Rötung und Schwellung der Nebennieren, Ergüsse in die serösen Körperhöhlen, besonders in die Pleura.

Es ist bekannt, daß die DiB.-Virulenz für Meerschweinchen sehr schwankt; ich machte deshalb mit den 18 Stämmen, von denen 1 ccm Bouillonkultur nicht tödlich gewirkt hatte, eine 2. Versuchsreihe mit 18 neuen Tieren. Bei dieser nahm ich, um eine gleichmäßigere Injektionsdosis zu erhalten, keine Bouillonkulturen (denn wir müssen uns ja stets vor Augen halten, daß wir es nicht in der Hand haben, die Zahl der in 1 ccm Bouillonkultur enthaltenen lebenden DiB. zu bestimmen), sondern ich spritze eine Normalöse einer 24stünd. Ascitesagarkultur ein. Weitere 3 Tiere erlagen der Impfung. In einer dritten Versuchsreihe impfte ich mit den übrig gebliebenen 15 Stämmen wiederum 15 Meerschweinchen subkutan, nur diesmal mit einer Normalöse voll von Loeffler-Serum, Kulturen, auf der ja die DiB. besonders gut wachsen. Wiederum gingen 3 Tiere ein und zeigten typschen Sektionsbefund. Um endlich auch schwächer-virulente DiB. herauszufinden, impfte ich mit den jetzt noch übrigen 12 Stämmen wiederum 12 Meerschweinchen, diesmal mit 3 Oesen einer 24stünd. Loeffler-Serumkultur. Nur 1 der geimpften Tiere ging ein, und bot bei der Sektion den typischen Befund. Wenn wir nun sehen, welche von den gewählten Stämmen für Meerschweinchen pathogen waren, so sind dies sämtliche 19 Stämme der 1. Gruppe, während alle 11 Stämme der 2. und

3. Gruppe auch bei Einverleibung großer Bakterienmassen sich als nicht pathogen erwiesen.

Diese Pathogenitätsprüfung zeigt uns also, daß die Bildung von Toxinen nur einer gewissen Gruppe morphologisch und kulturell wohl umschriebener Bakterien eigen ist. Voraussetzung ist nur, daß nicht mit Bouillonkulturen, sondern mit größeren Bakterienmengn (3 Oesen) von frischen, etwa 24 Std. alten Loeffler-Serumkulturen die Pathogenitätsprüfung ausgeführt wird. Geringere Mengen von Bakterien sind hierfür ungeeignet: sei es, daß ein Stamm weniger pathogen ist, sei es, daß in der Impfmenge nicht genug lebende Bakterien enthalten sind, oder aber, daß wechselnde Resistenz der Meerschweinchen bei zu kleinen Impfmengen störend wirkt.

Es ist selbstverständlich, daß jeder Versuch, die Pathogenitätsprüfung eines DiB.-Stammes ohne Tierverlust durchzuführen sehr erwünscht ist. In der Tijdschrift voor vergl. Geneeskunde ist nun durch Bakker eine solche Virulenzprüfung angegeben; er benutzt die Hornhaut des Meerschweinchenauges. Bakker sticht mit einer sehr feinen und spitzen Nadel, die mit den zu prüfenden Bakterien beschickt war, in die kokainisierte Hornhaut in bestimmter Richtung ein und zieht in der gleichen Richtung zurück, ohne dabei die Hornhaut zu durchbohren. Auf diese Weise kommen die Bakterien in eine kleine Hornhauttasche zu liegen, wo sie nicht leicht fortgespült werden können, und von wo aus sie ihre pathogene Wirkung entfalten können. Bakker fand ferner, daß, falls er die Nadel mit zu reichlich DiB. beschickte, die Reaktion dann so stark verlief, daß eine diffuse Keratitis, Konjunktivitis, Panophthalmie, bisweilen sogar der Tod eintrat. Deswegen schwemmte er eine Oese Kultur in 10 ccm physiol. NaCl-Lösung auf und befeuchtete die Impfnadel mit dieser Verdünnung. Nach 24 Std. zeigte sich dann eine mehr oder weniger diffuse Keratitis, die sich nach einigen Tagen wieder vollständig zurückbildete, nur ein einzelnen Fällen blieb ein Hornhautfleck zurück. Bakker fand die Reaktion streng spezifisch; mit Pseudo-DiB. ergab sich nie eine Reaktion von seiten der Hornhaut. Wie hochempfindlich die Hornhaut des Meerschweinchens für DiB. ist, zeigte Bakker dadurch, daß nur ganz wenige DiB. (1 Nadelspitze einer Aufschwemmung einer Oese Kultur in 3 Liter physiol. NaCl-Lösung) genügten, um eine schnelle und typische Reaktion auszulösen. Die Mitteilung, daß die Reaktion schon nach 24 Std. sichtbar sei, sowie die Ersparnis an Tieren ließen die Nachprüfung der Bakkerschen Versuche angezeigt erscheinen. Ich hielt mich genau an Bakkers Angaben, indem ich eine Aufschwemmung einer Oese Ascitesagarkultur in 10 ccm 0,85-proz. NaCl-Lösung herstellte und damit in der beschriebenen Weise die Meerschweinchenhornhaut beimpfte. Ich verwandte dazu 10 Stämme (Nr. 1, 3, 5, 6, 19, 21, 22, 23, 29, 30) der 1., 5 Stämme der 2. und 3. Gruppe (Nr. 7, 15, 17, 20, 27). Alle Stämme der 2. und 3. Gruppe ergaben niemals, auch nicht in den später noch erwähnten Versuchen, eine positive Reaktion. Von den 10 Stämmen der 1. Gruppe gaben nur 4 (Nr. 19, 22, 23, 29) ein positives Ergebnis. Dabei verlief die Reaktion, im Gegensatz zu den Angaben Bakkers, sehr heftig mit Entzündung der ganzen Hornhaut, starker Konjunktivitis und späterer Einschmelzung des Auges. Ich führte meine ungünstigen Ergebnisse zunächst auf falsche Ausführung der Impfung zurück; deswegen impfte ich wiederum 15 neue Meerschweinchen korneal, nur daß ich diesmal die Impfnadel

nicht in eine Bakterienaufschwemmung, sondern unmittelbar in eine Ascitesagarkolonie eintauchte; damit beimpfte ich sofort die Hornhaut, wobei ich möglichst tief einzudringen versuchte. Mit den 10 Stämmen der 1. Gruppe waren nur 3 Impfungen von Erfolg, und zwar nicht die gleichen Stämme wie in der 1. Versuchsreihe, sondern die Stämme Nr. 3, 6, 21, wobei in einem Falle (Stamm 21) die Reaktion ganz so verlief, wie Bakker sie beschrieben hat: nach 24 Std. Keratitis, die die sich später vollkommen zurückbildete. Bei den beiden anderen Tieren verlief die Reaktion in der oben beschriebenen stärkeren Weise mit Einschmelzung des ganzen Auges. Eines der Tiere starb nach 11 Tagen, allerdings ohne den für Di-Toxinwirkung kennzeichnenden Sektionsbefund. Ich kann also zwar bestätigen, daß die Meerschweinchenhornhaut für DiB. empfindlich ist und daß nur echte DiB.-Stämme die Bakkersche Reaktion geben, ich fand aber, daß diese Reaktion nicht regelmäßig eintritt, kann also, wenigstens bei der bisher benutzten Impftechnik, die Hornhautimpfung beim Meerschweinchen für die Prüfung der Pathogenität von DiB.-Stämmen nicht empfehlen.

Eine Methode, die für die Unterscheidung der verschiedenen Corynebakterien verwandt worden ist, ist die Prüfung auf Zuckervergärung, doch finden wir in betreff der Resultate bei den verschiedenen Autoren erhebliche Widersprüche. Diese sind wohl dadurch zu erklären, daß jeder Untersucher sich seinen eigenen Nährboden zusammenstellte; selbstverständlich war es auf diese Weise nicht möglich, einheitliche Ergebnisse zu bekommen. Wenn wir eine Bakterienart auf die Spaltung einer bestimmten Zuckerart prüfen wollen, dann darf in dem Nährboden keine andere Zuckerart enthalten sein als die zu prüfende. So ist es falsch, zu diesem Zwecke Nährbouillon zu verwenden, da sie stets etwas Glykogen und Traubenzucker enthält. Zwar sind verschiedene Methoden angegeben worden, Bouillon zuckerfrei zu machen, so durch Smith, Martin, Spronck, aber sie sind so umständlich, daß sie sich nicht eingeführt haben. Man muß ferner die Möglichkeit bedenken, daß die Fermentation einer Zuckerart (Kohlenstoffquelle) zum mindesten quantitativ von den Stickstoffquellen des Nährbodens abhängig ist. Wenn z. B. ein Nährboden neben Pepton noch Serum als Stickstoffquelle enthält, so wird die stickstofffreie C-Quelle viel weniger angegriffen werden, als wenn bloß Pepton als einzige N-Quelle darin enthalten ist; in Nährmedien mit einfachen N-Verbindungen sehen sich die Bakterien eher veranlaßt, zu ihrer Ernährung auch noch eine stickstofffreie C-Quelle anzugreifen, als in Serum- oder Ascites-Nährböden mit reichlich hochmolekularen Eiweißstoffen. Eine Prüfung der Zuckervergärung muß deshalb auf einen möglichst einfach zusammengesetzten zuckerfreien Nährboden zurückgreifen. Daß auch die Reaktion des Nährbodens, d. h. die Entfernung vom Neutralpunkt, für den Ausfall einer Zuckervergärungsprüfung mitbestimmend ist, ist selbstverständlich. Van Riemsdijk und nachher Lubinski verwandten zu diesem Zwecke eine Nährlösung, die wohl all diesen Forderungen entspricht. Sie enthält 1 Proz. Pepton, $^1/_2$ Proz. Kochsalz, 6 Proz. Lackmustinktur und 1 Proz. der zu prüfenden Zuckerart. Der Nährboden wird mit 10-proz. Sodalösung auf einen PH-Wert von 7,8 eingestellt und 3mal 20 Min. bei 100° im Dampftopf sterilisiert, wobei sich der PH-Wert von 7,8 auf 7,6 vermindert.

Auch ich wählte zur Prüfung der Zuckerspaltung der 30 Stämme diese Lösung. Als Zuckerarten nahm ich Dextrose, Saccharose, Maltose, Laktose und Lävulose. Es zeigte sich, daß in betreff Zuckervergärung innerhalb jeder der 3 Gruppen sämtliche Stämme sich gleich verhielten. In welcher Art jede der 3 Gruppen diese dargebotenen Quellen verwandte, zeigt Tabelle III. Schon durch die Vergärung von Trauben-

Tabelle III.

Zuckervergärungsprüfung in Zucker—Pepton—Nährlösung.

	Dextrose	Saccharose	Maltose	Laktose	Laevulose
Gruppe I	+	—	±	—	+
Gruppe II	—	—	—	—	—
Gruppe III	+	+	+	—	+

und Rohrzucker kann die Differenzierung der 3 Gruppen veranschaulicht werden. Doch hat es sich aus später noch zu besprechenden Gründen als notwendig erwiesen, auch die anderen Zuckerarten zur Unterscheidung heranzuziehen. Zu erwähnen ist weiter noch, daß die Vertreter der 2. Gruppe nicht nur die gewählten Zuckerarten, sondern auch andere Vertreter der Mono-, Di- und Polysaccharidreihe nicht angreifen. Es scheinen gerade diese Bakterien überhaupt keine zuckerspaltenden Fermente zu bilden. Aus meinen Untersuchungen ergibt sich also, daß mit den Zuckerpeptonnährlösungen sich die pathogenen DiB. und die beiden nicht pathogenen Gruppen gut unterscheiden lassen.

Selbstverständlich kann mir nun der Einwurf gemacht werden, daß zwar bei Di-Kranken und -Genesenen die isolierten Stämme (denn um solche Stämme handelt es sich ja bei meinen bisherigen Untersuchungen) die von mir angezeigten typischen Eigenschaften aufweisen, daß aber andererseits auf Wunden, auf Haut oder Augenbindehaut, oder vielleicht auf der Nasenschleimhaut oder im Rachen bei Gesunden irgendwelche anderen Stämme vorkommen könnten, die sich in die bisher gegebene Gruppierung nicht einreihen lassen. Um diesem Einwand zu begegnen, untersuchte ich noch weitere von mir isolierte diphtheroide Stämme, über deren Eigenschaften ich jetzt noch kurz berichten möchte. Es handelt sich hierbei um 160 Stämme, die sich gemäß ihrem Ursprung in folgender Weise verteilen:

1) 100 Abstriche von nicht diphtheriekranken Säuglingen und Kleinkindern (50 Rachen-, 50 Nasenabstriche). Aus diesen Abstrichen gelang es, 71mal Stämme zu isolieren, die auf Grund ihrer morphologischen, biologischen und färberischen Eigenschaften als Corynebakterien anzusprechen waren. Von diesen 71 Stämmen wurden 54 aus Nasenabstrichen, 17 aus Rachenabstrichen gezüchtet. — 2) 34 Abstriche von gesunder Augenbindehaut ergaben 26 Stämme, die den Diphtheroideen zuzurechnen waren. — 3) 50 Abstriche von tuberkulösen Fisteln ergaben 13 diphtheroide Stämme. — 4) 5 Abstriche von klinischer Wunddiphtherie ergaben 5 hierhingehörige Stämme. — 5) 75 Abstriche von der Haut von Säuglingen und Kindern brachten weitere 45 Stämme.

Im ganzen also mit den 30 schon beschriebenen 190 untersuchte Stämme.

Zur Einteilung wurden wiederum herangezogen: Form der Stäbchen auf Loeffler-Serum, Wachstumsart und -Intensität auf Blutagar, Neigung zur Polkörnchenbildung auf Blutagar und Loeffler-Serum, Zuckervergärung in Peptonzuckerlösung mit den 5 angegebenen Zucker-

arten, Pathogenitätsprüfung beim Meerschweinchen durch subkutane Einverleibung größerer Mengen lebender Bakterien von 24 Std. alten Loeffler-Kulturen. Ohne auf Einzelheiten eingehen zu wollen (ich werde an anderer Stelle noch darauf zurückkommen), kann ich meine Untersuchungen hier in Kürze dahin zusammenfassen, daß in der Tat die oben beschriebene Systematik für eine Einteilung sämtlicher hierhin gehörender Stämme nicht ausreicht. Tabelle IV zeigt den Versuch, alle (30+160) untersuchten Stämme in 6 Gruppen einzuordnen.

Tabelle IV.
Systematik der untersuchten 190 Stämme.

	Herkunft. Abstriche von:						
	Rachen und Nase von Di-Kranken	Gesunden:		Augen-bindehaut	Tbc.-Fisteln	klinischer Mund-Di.	normaler Haut
		Nase	Rachen				
Gruppe I	19^{19+}_{0-}	6^{5+}_{1-}	0	3^{0+}_{3-}	2^{1+}_{1-}	0	3^{2+}_{1-}
Gruppe II	6	24	7	2	0	0	7
Gruppe III a	5	4	5	0	8	2	10
Gruppe III b	0	0	1	5	0	0	6
Gruppe IV a	0	12	3	12	2	1	3
Gruppe IV b	0	6	1	2	0	2	6
Gruppe V	0	1	0	1	1	0	7
Gruppe VI	0	1	0	1	0	0	3

I. Gruppe. Diese Gruppe entspricht in allen morphologischen und physiologischen Eigenschaften den vorher beschriebenen, als Gruppe I bezeichneten 19 Stämmen. Es handelt sich bei diesen langen, schlanken Stäbchen um die echten Loefflerschen DiB., die sich, wie die Tabelle zeigt, nicht nur bei Rachen- und Nasen-Di, sondern auch auf Wunden, auf Haut und Augenbindehaut und auf der gesunden Nasenschleimhaut finden können. Alle hierhin gehörigen Stämme erwiesen sich in Form, Wachstum und Zuckervergärung als einheitlich. Nur in der Frage der Meerschweinchenpathogenität zeigten 6 Stämme ein abweichendes Verhalten: bei diesen konnte auch mit großen Mengen lebender Bakterien beim Meerschweinchen keine Reaktion hervorgerufen werden: es handelt sich also bei diesen Stämmen um avirulente echte Loefflersche DiB. Auf die Frage der Wiedererlangung der Pathogenität dieser avirulenten, sonst aber typischen Stämme werde ich bei einer Veröffentlichung über Mutationen bei diphtheroiden Bakterien noch zu sprechen kommen. Versuche, diese nichtpathogenen DiB. auch kulturell von den pathogenen zu unterscheiden, scheiterten bisher; am ehesten scheint mir das noch mit der Galaktosevergärung möglich zu sein, indem alle pathogenen Stämme diese Zuckerart gut spalteten, während die avirulenten 6 Stämme dies im allgemeinen bedeutend schwächer taten. Der Versuch, diese Eigenschaft durch qualitative Auswertung zu einer praktisch brauchbaren Unterscheidungsmethode auszubauen, scheiterte daran, daß die Galaktosevergärung der avirulenten Stämme zu stark schwankte. Ob Pathogenität und Galaktosevergärung parallel gehen, konnte bisher wegen Tiermangel nicht entschieden werden.

II. Gruppe. Die in diese Gruppe eingereihten Stämme sind auf Grund ihrer bei den zuerst untersuchten 6 Stämmen schon beschriebenen Eigenschaften als die Hofmann-Wellenhofschen Pseudo-DiB.

anzusprechen. Da es sich hier um eine gut charakterisierbare Bakterienart handelt, ist es nicht angängig, wie es vielfach geschieht, irgendwelche anderen pathogenen diphtheroiden Stäbchen als Pseudo-DiB. zu bezeichnen. Die Uebersicht zeigt, daß diese Bakterien hauptsächlich in der Nase, besonders gern bei Säuglingen und Kleinkindern, vorkommen, worauf u. a. Neumann und Stoos hingewiesen haben. Daß sie von dort aus in den Rachen, und durch Verunreinigung auch auf die Haut gelangen können, ist verständlich. Im Tierversuch erwiesen sich sämtliche hierhin gehörigen untersuchten Stämme als avirulent.

III. Gruppe. Hier hatte ich in meinen bisherigen Ausführungen die auf Blutagar üppig weiß wachsenden kurzen Stäbchen eingereiht, die sowohl Dextrose als auch Saccharose spalteten. Meine weiteren Untersuchungen zeigten mir nun, daß wir es hier nicht wie bei Gruppe II mit einer einzigen Mikroorganismenart, sondern mit einer ganzen Anzahl verschiedenartiger Stämme zu tun haben, die alle die gemeinsame Eigenschaft besitzen, daß sie auf Blutagar sehr intensiv, üppig weiß wachsen. Was die Bakterienform angeht, so zeigten sich da gewisse, doch nicht sehr erhebliche Unterschiede. Ich beobachtete mittellange, aber auch ganz kurze, ovale Formen. Sehr lange, schlanke, in ihrer Form denen der 1. Gruppe ähnliche Stäbchen konnte ich hier nicht feststellen. Die Polkörnchenbildung wechselte bei diesen Bakterien stark. In betreff der Zuckervergärung, die die beste Einteilungsmethode für diese Stämme darstellt, zeigten sich erhebliche Unterschiede. Durch Lubinski und Radice sind Para-DiB.- oder Wund-DiB.-Stämme beschrieben worden, die wohl in diese Gruppe gehören. Diese Autoren legen auf die Vergärung von Saccharose (gegenüber den echten DiB.) besonderen Wert. Meine Untersuchungen zeigten an, daß wir auf der Haut, aber auch sonstwo, auch Saccharose nicht vergärende Stämme finden, die sich durch ihr üppiges Wachstum auf Blutagar als hierhin gehörende Saprophyten kennzeichnen. Es muß deswegen den Lubinskischen Saccharosevergärern (Gruppe IIIa) eine weitere Gruppe (IIIb) der Rohrzucker nicht angreifenden Stämme an die Seite gestellt werden (Tabelle IV). Hier möchte ich besonders darauf hinweisen, daß weder IIIa noch IIIb einheitliche Bakterienarten sind, sondern jede verschiedenartige Mikroorganismen umfaßt; an anderer Stelle werde ich noch eingehender hierauf zu sprechen kommen. Alle Stämme (IIIa und IIIb) erwiesen sich im Tierversuch als ungiftig.

IV. Gruppe. Von diesen zuletzt beschriebenen, durch ihr starkes Wachstum sich auszeichnenden Stämmen der Gruppe III war eine weitere Gruppe von Mikroorganismen wohl zu unterscheiden, die nur eine verhältnismäßig geringe Wachstumsintensität zeigten. So war z. B. auf Blutagar nach 24 Std. Brutschrankaufenthalt bei einer Reihe von Stämmen nur ganz geringes Wachstum zu beobachten, während einzelne Stämme auf gewöhnlichem Agar bei 37° fast gar nicht angingen. Das Aussehen der Kolonien auf Blutagar ist zart, klar und farblos, wie wir es in ähnlicher Weise bei Stämmen der 1. Gruppe kennen gelernt haben, nur daß diese doch bedeutend kräftiger wuchsen als die Stämme dieser 4. Gruppe. Die Form dieser Mikroorganismen war im Durchschnitt mittellang bis lang, jedoch dicker und plumper als die echten DiB.; auch war die Lagerung mehr pallisadenartig, nicht so fingerförmig wie bei den echten Loefflerschen DiB. Ein gutes Unterscheidungsmerkmal gegenüber den Vertretern der 1. Gruppe gab auch hier wieder die Säurebildung aus Zucker, indem die Stämme dieser 4. Gruppe,

ihrer geringen Wachstumsintensität entsprechend, in den zur Prüfung herangezogenen Peptonlösungen bei 36° überhaupt nicht oder nur schwach wuchsen. Die Nährlösung blieb blau und ungetrübt, nur vereinzelt wurde ganz schwache violette Verfärbung beobachtet, die in keinem Falle mit dem deutlichen und starken Ausfall der Zuckervergärungsprobe der Stämme der 1. Gruppe zu verwechseln war. Daß unter geeigneten Versuchsbedingungen auch diese Stämme Zucker anzugreifen vermögen, stellte ich durch Vergärungsprüfung in Thielscher Lösung (mit Dextrose oder Saccharose als C-Quelle) fest. Auch hier zeigte es sich, daß wir es nicht mit einer einheitlichen Bakterenart, sondern mit einer Artengruppe zu tun haben, die in der Zuckervergärung sich verschieden verhält. Die Neißer-Färbung zum Polkörnchennachweis ermöglichte eine Einteilung in 2 Untergruppen, von denen die eine (Gruppe IVa) Polkörnchenbildung, ähnlich wie Gruppe I, mit je einem metachromatischen Körnchen an jedem Bakterienende aufwies, wohingegen bei der 2. Gruppe (Gruppe IVb) im Bakterienleibe sich eine Reihe gut ausgebildeter metachromatischer Körnchen nebeneinander darstellen ließ. Diese Bakterien dürften etwa dem von Gelbke beschriebenen Bacterium septatum entsprechen. Da diese Mikroorganismen mit besonderer Vorliebe auf der Augenbindehaut vorzukommen scheinen, möchte ich sie nach der alten, von Neißer und Kuschbert eingeführten Bezeichnung als Xerose-Gruppe zusammenfassen. Alle diese Stämme erwiesen sich im Tierversuch als vollkommen ungiftig.

V. Gruppe. Hier fasse ich alle die Stämme zusammen, die sich durch Farbstoffbildung auf den Nährböden (besonders schön auf Loffler-Serum) auszeichnen. Bei diesen Stämmen, die, als reine Saprophyten, hauptsächlich auf der Haut nachzuweisen waren, handelt es sich um eine ganze Reihe verschiedenartiger Mikroorganismen, die sich durch die Art des gebildeten Farbstoffes, durch Form, Polkörnchenbildung und Zuckervergärung untereinander wohl unterscheiden lassen; ich verweise hier in diesem Zusammenhang kurz auf die dahingehenden Untersuchungen von Kißkalt und Behrend.

VI. Gruppe. Hier wären alle diejenigen Stämme einzureihen, die sich in die bisher genannten 5 Gruppen nicht einordnen lassen. So fand ich 3mal bei Hautabstrichen, dann aber auch 1mal von Augenbindehaut und gesunder Nase Bakterienstämme, die durch ihr trockenes flaches Wachstum (besonders schön auf Blutagar zu sehen) auffielen. Auch bei Hühnern konnten aus dem Rachen der gesunden Tiere solche trocken wachsenden, schlecht verreibbaren Diphtheroideen gezüchtet werden (Corynebacterium gallinarum Graham-Smith).

Zusammenfassung. Meine Untersuchungen haben gezeigt, daß es nicht genügt, bei der großen Gruppe der diphtheroiden Bakterien zwischen echten DiB. und Pseudo-DiB. zu unterscheiden, sondern daß eine große Zahl mehr oder weniger verschiedener Bakterienarten besteht. Es ist deshalb wohl selbstverständlich, daß wir zur Differenzierung nicht mit einer oder 2 Untersuchungsmethoden auskommen können, sondern daß wir zur genauen Unterscheidung eine Vielheit von Untersuchungsmethoden heranziehen müssen. Ich konnte zeigen, daß uns zu diesem Zwecke die Form der Bakterien auf Loeffler-Serum, Wachstumsart und -Intensität auf Blutagar, Nei-

gung zur Polkörnchenbildung sowie hauptsächlich die Säurebildung in Peptonlösung mit Zusatz verschiedener Zuckerarten gute Dienste leisten kann. Der Versuch, alle diese verschiedenen Bakterienarten in ein System einzuordnen, ist unter Zuhilfenahme aller genannten Untersuchungsmethoden möglich. Meine Einteilung in 6 Gruppen stellt gewissermaßen nur ein Gerüst dar, das noch zu einem vollkommenen Bau ausgearbeitet werden muß.

Literatur.

v. Behring, Bibl. v. Coler. Bd. 2. Berlin 1901. — Lehmann und Neumann, Atlas und Grundriß der Bakt. — Lubinski, Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. 85, 96. — Riebold, Münch. med. Wochenschr. 1923. Nr. 38 u. 39. — K. Klein, Dtsch. med. Wochenschr. 1920. 297. — Levinthal, Berl. klin. Wochenschrift 1918. Nr. 30; Zeitschr. f. Hyg. Bd. 86. 1918. — Dale, Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Nr. 56. S. 401. — Trautmann u. Dale, Ebenda. Abt. I. Ref. Bd. 47. Anh. S. 137. — Bakker, Tijdschr. v. vergeleijk. Geneesk. 1920. p. 211. — van Riemsdijk, Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Org. 75. S. 229. — Neumann, R. O., Zeitschr. f. Hyg. Bd. 40. S. 33. — Thiel, Hyg. Rundsch. Bd. 17. S. 1271. — Gelbke, Karlsruhe 1898 (nach Lehmann-Neumann, Atlas u. Grundriß d. Bakt.). — Stoos, zit. nach Ballin, Jahrb. f. Kinderheilk. Bd. 58. S. 412. — Radice, Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Org. Bd. 21, S. 20.

Nachdruck verboten.

Ueber den Toxongehalt des Diphtheriegiftes.

Von Dr. **Richard Prigge**, Frankfurt a. M.

Mit 3 Abbildungen im Text.

Für die in einem Diphtheriegift enthaltene Toxonmenge hat Ehrlich folgende Beziehungen festgestellt: Bezeichnet man die in L_0 enthaltenen Toxoneinheiten mit z, die in L_0 enthaltenen tödlichen Dosen mit α, und mit β diejenige Anzahl d. l., um die α vermehrt werden muß, damit sämtliche 200 Bindungseinheiten einer AE. mit Toxin-Toxoid abgesättigt werden, so ist

$$z : 200 = \beta : (\alpha + \beta), \text{ also } z = \frac{200 \cdot \beta}{\alpha + \beta}$$

In den sämtlichen Lehr- und Handbüchern, die diese Formel wiedergeben, hat sich nun der Irrtum erhalten, daß man mit Hilfe dieser Formel z berechnen könne, wenn L_0 und $L\dagger$ bekannt sind. Es wird nämlich fälschlicherweise $\beta = d - 1$ gesetzt ($d = L\dagger - L_0$). Der Fehler ist durch die Erwägung hervorgerufen, daß $L\dagger$ diejenige Giftmenge ist, die nach Zusatz von 1 AE. gerade 1 d. l. freiläßt. Es ist jedoch keineswegs immer der Fall, daß man zu α außer β nur gerade 1 d. l. zusetzen muß, um von L_0 zu $L\dagger$ zu gelangen. Es möge sich um ein Gift handeln, das ein Hemitoxingebiet mit anschließender $^1/_{10}$ Tritotoxinzone enthält [Gift 5, Phase II[1])]. Vermehrt man diejenige Gift-

1) Berl. klin. Wochenschr. 1903. S. 826.

dosis, mit der man eine AE. so absättigen kann, daß alle Bindungseinheiten mit Toxin-Toxoid besetzt sind und nur Toxon freibleibt ($\alpha+\beta$; ein Wert, der mit L_n bezeichnet werden möge), um 1 d. l., im vorliegenden Beispiel also um etwas weniger als 5 Bindungseinheiten (10 Bindungseinheiten = $2^1/_{10}$ d. l.), so bleibt nach Zusatz einer AE. keineswegs 1 d. l. frei, sondern lediglich etwas weniger als 5 Einheiten $^1/_{10}$ Tritotoxin, also nicht ganz $^1/_2$ d. l., da zunächst die avideren Partien des Giftes abgesättigt werden. Erst nach Zusatz von 10 Bindungseinheiten = $2^1/_{10}$ d. l. bleibt 1 d. l. frei, wenn man zu der Giftmenge 1 AE. fügt. β ist somit = d $-2^1/_{10}$, nicht = d -1. (Fig. 1.)

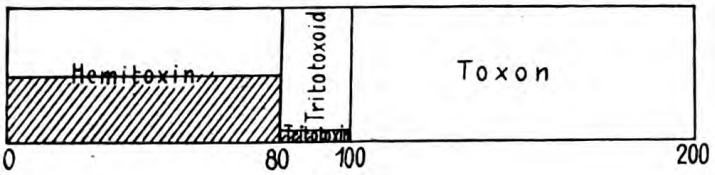


Fig. 1.

Hat man ein Gift, das aus einer Prototoxoidzone mit anschließendem Reintoxin besteht, so werden im gewählten Fall (s. Fig. 2) nach Zusatz von $^{10}/_5$ Bindungseinheiten = 1 d. l. zu L_n mehr als 1 d. l. ($^8/_5$ d. l.) von 1 AE. freigelassen werden, da zunächst die meistaviden Prototoxoidpartien abgesättigt werden. Fügt man jedoch nur $^{10}/_8$ Bindungseinheiten = $^5/_8$ d. l. zu, so bleibt nach Zusatz von 1 AE. gerade 1 d. l. frei. β ist hierbei also = d $-^5/_8$. (Fig. 2.)

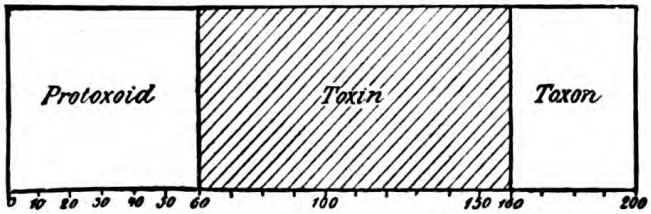


Fig. 2.

Handelt es sich jedoch um ein reines Hemitoxin (Gift 5, Phase I), so wird nach Zusatz von 4 Bindungseinheiten Gift (= 1 d. l.) zu L_n auch gerade 1 d l. freibleiben, wenn man 1 AE. hinzugibt. (Fig. 3.)

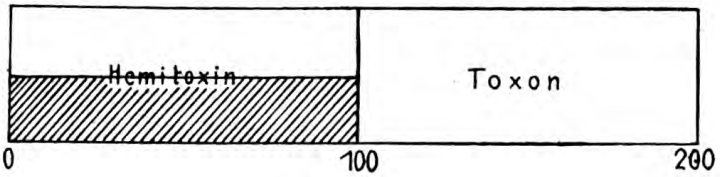


Fig. 3.

Nur in dem Fall, daß das Toxin-Toxoidgebiet eines Giftes vollständig gleichmäßig zusammengesetzt ist, ist also β = d -1. Nur in diesem Falle wäre es somit möglich, z aus L_0 und L† zu berechnen. Bei allen anderen Giften ließe sich z mit Hilfe der oben zitierten Formel nur ermitteln, wenn β direkt bestimmt würde. Näherungsweise läßt sich z jedoch stets aus L_0 und L† bestimmen, wenn man den Fehler vernachlässigt, der aus verallgemeinerter Setzung von β = d -1 resultiert.

Nachdruck verboten.

Experimenteller Beitrag zur Frage der Immunität bei Recurrens und ihrer Beeinflussung durch die Salvarsantherapie.

[Aus der bakteriologischen Abteilung des Reichsgesundheitsamts in Berlin-Dahlem (Serologisches Laboratorium).]

Von **Y. Tomioka,** Tokio.

Die nachstehend mitgeteilten Untersuchungen wurden in der bakteriologischen Abteilung des Reichsgesundheitsamts auf Anregung von Herrn Oberregierungsrat Manteufel ausgeführt. Die Veranlassung war gegeben durch eine experimentelle Arbeit von Buschke und Kroó (Klin. Wochenschr. 1922. S. 2323), der später noch weitere Mitteilungen über den gleichen Gegenstand folgten (Klin. Wochenschr. 1922. Nr. 50; ebenda 1923. Nr. 13; Deutsche med. Wochenschr. 1923. Nr. 46).

Buschke und Kroó bringen in diesen bedeutsamen Untersuchungen Beweise für die Ansicht, daß die experimentelle Recurrensinfektion bei Mäusen nicht unter Hinterlassung einer sterilen (absoluten) Immunität ausheilt, wie man es bisher allgemein auf Grund der früheren Untersuchungen (Uhlenhuth und Haendel, C. Fraenkel, Manteufel, Toyoda u. a.) und im Einklang mit Untersuchungen über die Immunität bei der Spirochätose der Hühner von Marchoux und Salimbeni (Ann. Pasteur 1903. 17), Levaditi (Ann. Pasteur 1904. 18), Neufeld und v. Prowazek (Arb. Kais. Gesundheitsamt 1907. 25), sowie Uhlenhuth und Groß (Arb. Kais. Gesundheitsamt 1908. 27) annehmen mußte. Vielmehr sollen die Recurrensspirochäten nach dem Abklingen der Rezidive ähnlich wie die Syphilisspirochäten in den inneren Organen der geheilten Tiere am Leben bleiben und dann mit besonderer Regelmäßigkeit im Gehirn nachzuweisen sein, wenn man das Gehirn aut gesunde Mäuse verimpft. Bei der mikroskopischen Untersuchung fanden sich in solchen Gehirnen wohl charakteristische anatomische Veränderungen des Parenchyms, aber keine Spirochäten in nachweisbarer Menge. Prüften die Autoren bei solchen „geheilten" Tieren durch Reinfektion mit dem homologen Spirochätenblut 5—14 Wochen nach der 1. Infektion auf Immunität, so konnten sie mikroskopisch zwar das Ausbleiben einer 2. Blutinfektion feststellen, dagegen erwiesen sich auch diese 2mal infizierten Tiere nicht als steril, sondern es ließen sich durch Tierimpfung Parasiten im Gehirn nachweisen. Diese „Restparasiten" ließen sich auch durch große und wiederholte Neosalvarsandosen nicht abtöten. In dem 1. der protokollarisch angeführten Versuche konnten sie beispielsweise trotz 3maliger intravenöser Behandlung mit je 5 mg Neosalvarsan in 5tägigen Abständen bei 8 immunen Mäusen in sämtlichen Fällen durch Abimpfung Recurrensspirochäten im Gehirn nachweisen. Auch wenn der Versuch in der Weise angestellt wurde, daß nicht immune, sondern frisch infizierte Mäuse am 3. Tage nach der subkutanen Infektion mit einer einmaligen Dosis von 3 mg Neosalvarsan behandelt und dadurch mikroskopisch blutparasitenfrei gemacht wurden, konnten die Autoren durch eine 5 Tage später vorgenommene Tierimpfung infektionstüchtige Parasiten im Gehirn feststellen, und zwar in 10 Fällen 7mal. 10 weitere Mäuse der gleichen Versuchsreihe wurden am 6. Tage nach der intravenösen Salvarsanbehandlung mit dem gleichen Virus nachgeimpft, wobei die Reinfektion in 9 Fällen anging. Eine 3. Reihe von 10 Tieren des gleichen Versuchs diente zur Kontrolle dafür, ob die Neosalvarsanbehandlung ausgereicht hatte, das Blut mikroskopisch parasitenfrei zu machen. Das war bei

allen 10 Mäusen der Fall. Die beiden Autoren schließen aus diesem Versuch, daß die Neosalvarsanbehandlung einerseits auf die im Gehirn und in anderen Organen zurückbleibenden Restparasiten keine sterilisierende Wirkung auszuüben vermag, andererseits sogar insofern nachteilig wirkt, als es die bei der Spontanheilung eintretende Blutimmunität vernichtet und die Möglichkeit einer Superinfektion schafft. Damit sei die Möglichkeit einer Superinfektion bei einer menschenpathogenen Spirochätose überhaupt zum 1. Male experimentell sichergestellt, so daß es nahe läge, die seit der Salvarsanära häufiger zur Beobachtung kommenden Fälle von Reinfektion bei Syphilis nicht als Beweis einer völligen Heilung der Erstinfektion durch die Salvarsantherapie zu deuten, sondern als Superinfektion, die durch die Störung der normalen Immunitätsvorgänge infolge der Salvarsantherapie zustande kommt. Was diese Möglichkeit der Superinfektion durch Salvarsan anlangt, so zeigten in den Versuchen von Buschke und Kroó in 1 Falle 4 wiederholt mikroskopisch auf Blutimmunität geprüfte Mäuse nach 3maliger Behandlung mit je 2 mg Neosalvarsan sämtlich eine Reinfektion des Blutes, in einem 2. Versuch von 7 immunen Mäusen, die 3mal in 5tägigen Abständen je 4 mg des Präparates erhalten hatten, 2 unter ihnen, und in einer 3. Reihe, in der 7 immune Mäuse in 5tägigen Abständen je 5 mg Neosalvarsan erhalten hatten, keine einzige.

Infolge der Uneinheitlichkeit der letztgenannten Befunde und der großen Bedeutung der allgemeinen Schlußfolgerungen für die Therapie des Rückfallfiebers und im gewissen Sinne auch der Syphilis schien eine Nachprüfung der Ergebnisse notwendig und von praktischem Wert zu sein.

Technische Bemerkungen.

Die Versuche wurden mit dem gleichen Stamm von russischem Rückfallfieber angestellt, mit dem auch Buschke und Kroó gearbeitet haben. Die Ergebnisse lassen sich infolgedessen besser mit denen der genannten Autoren in Parallele bringen, als wenn biologische und immunisatorische Stammesverschiedenheiten im Spiele sind, mit denen man ja bei den Recurrensspirochäten nach den Mitteilungen von Toyoda über biologisch untereinander differierende Stämme aus der gleichen Gegend und Epidemie in weit größerem Umfange rechnen muß, als im allgemeinen anzunehmen war. Die Untersuchungen von Gonder bei Hühnerspirochäten (Ztschr. f. Immunitätsf. 1914. S. 21) sprechen bekanntlich ebenfalls für eine starke Veränderlichkeit der immunisatorischen Spezifitätserscheinungen bei diesen Mikroorganismen.

Auch insofern sind die Versuchsreihen von Buschke und Kroó mit den meinigen vergleichbar, als in beiden Fällen die Virulenz des Stammes für Mäuse während der ganzen Versuchsdauer eine erhebliche war. Buschke und Kroó hatten bei den subkutan oder intraperitoneal geimpften Mäusen 42 Proz. Mortalität, während ich bei perkutaner Impfung bis zu 70 Proz. zu beklagen hatte. Dieser letztgenannte, zuerst von Manteufel (Arb. aus d. Kais. Gesundheitsamt 1908. 27) in vielfachen Untersuchungen angewandte perkutane Infektionsmodus wurde in den vorliegenden Untersuchungen von mir grundsätzlich in Anwendung gebracht, weil sich dabei der beim Menschen übliche Verlauf des Rückfallfiebers in mehreren Anfällen auch bei Ratten und Mäusen besser nachahmen läßt als mit der Subkutaninfektion. Während Buschke und Kroó nur bei 35 Proz. der den 1. Anfall überlebenden Mäuse nach 6—7 Tagen einen 2. Anfall sahen, beobachtete ich meist mehr als 2 Anfälle, und öfter bis zu 5 solcher. Natürlich gehört zu einer so genauen Feststellung des Verlaufes eine tägliche mikroskopische Blutuntersuchung, da die Rezidive häufig nur an 1 Tage mikroskopisch feststellbar sind. Daß die Spirochäten in

der anfallsfreien Zeit nicht gänzlich aus der Blutbahn verschwinden, sondern bei negativem mikroskopischen Blutbefund durch Abimpfung des Blutes auf gesunde Tiere häufig nachweisbar sind, wissen wir aus den Untersuchungen von Manteufel (Arb. Kais. Gesundheitsamt. 29. 1908. S. 350) und anderen Autoren.

Die perkutane Impfung wird in der Weise ausgeführt, daß man die Mäuse in Rückenlage aufspannt, um ihnen jede Bewegungsmögkeit zu nehmen. Dann werden die Haare an der Bauchseite mit einer scharfen (geraden) Schere in möglichst großer Ausdehnung kurz abgeschnitten, wobei man jede Verletzung der Haut zu vermeiden hat. Man bringt nun auf die geschorene Stelle einige Tropfen gut infiziertes, frisch entnommenes Recurrensblut, verteilt dieses mittels einer zugeschmolzenen Kapillarpipette oder eines Glasstäbchens auf die ganze geschorene Fläche und läßt es etwa $^1/_2$ Std. eintrocknen. Tatsächlich dürfte bereits eine kürzere Zeit genügen, denn wie die Untersuchungen von Schellack (Arb. Kais. Gesundheitsamt Bd. 40. 1912) ergeben haben, dringen die Recurrensspirochäten bereits in wenigen Minuten derartig in die Tiefe der Haut ein, daß sie der abtötenden Wirkung einer Alkoholabreibung entzogen sind. Nach dem Eintrocknen wird das Blut mit Benzin abgewaschen und das Tier losgebunden.

Während die Spirochäten bei intraperitonealer Injektion bereits nach Stunden und jedenfalls in größerer Anzahl am nächsten Tage in der Blutbahn zu finden sind, muß man bei perkutaner Infektion oft bis zum 2. oder 3. Tage auf eine mikroskopisch feststellbare Blutinfektion warten. Bei mechanisch unverletzter Haut gelingt die Infektion auf perkutanem Wege auch nicht in allen Fällen. Manteufel gibt in seiner 1. Arbeit etwa 50 Proz an, aber diese Zahl dürfte wohl in enger Abhängigkeit von den jeweiligen Versuchsbedingungen im einzelnen stehen. Wie Manteufel an anderer Stelle mitteilt, ist eine deutliche Begünstigung der perkutanen Infektion durch Einreiben des Blutes in die Haut nicht mit Sicherheit festzustellen, dagegen kann man den Prozentsatz der Impferfolge auf 100 steigern, wenn man die kurz geschorene Bauchhaut außerdem noch mit einem Rasiermesser trocken rasiert oder besser abschabt, so daß eine leichte Rötung der Stelle infolge oberflächlicher, nicht blutender Epithelerosionen entsteht. In dieser letztgenannten Abänderung habe ich in meinen Untersuchungen, da es auf möglichst regelmäßige Infektionserfolge ankam, die perkutane Infektionsmethode benutzt und immer 100 Proz. positive Erfolge bekommen. Die Blutuntersuchungen wurden im Dunkelfeld mit der Falkenthalschen Lampe (Zeiss Obj. 3 mm n. A. 0,95, Kompens.-Okular 4) vorgenommen. Falls die einzelnen Mäuse eines Versuchs nicht jede für sich in besonderem Behälter gehalten werden können, hat man wenigstens sorgfältig darauf zu achten, daß die Blutentnahmestelle am Schwanz mit einer geglühten Pinzette jedesmal vorsichtig verschorft wird, weil anderenfalls die Möglichkeit gegeben ist, daß von einer infizierten Maus aus die anderen Tiere in dem gleichen Behälter sich an der blutenden Schwanzwunde infizieren.

Der Parasitenbefund in der Gehirnsubstanz bei normalem Ablauf der Recurrensinfektion.

Zunächst kam es darauf an, festzustellen, ob und in welcher Häufigkeit auch bei der perkutanen Infektionsmethode das von Buschke

Tabelle I.

12 Mäuse wurden am 31. 5. 23 mit frischem Recurrensblut perkutan infiziert und bekamen dadurch eine in mehreren Anfällen verlaufende Erkrankung. Nach 21, 32 und 36 Tagen wurden sie entblutet, und das in isotonischer Kochsalzlösung verriebene Gehirn wurde auf je 2 Mäuse weiterverimpft. Der Termin der Weiterimpfung ist durch eine senkrechte Linie markiert. In den Fällen 8—12 wurde außer dem Gehirn auch das Blut verimpft.

Nr.	31. 5.	1. 6.	2. 6.	3. 6.	4. 6.	5. 6.	6. 6.	7. 6.	8. 6.	9. 6.	10. 6.	11. 6.	12. 6.	13. 6.	14. 6.	15. 6.	16. 6.	17. 6.	18. 6.	19. 6.	20. 6.	21. 6.	22. 6.	23. 6.	24. 6.
1	Perkutane Imfung mit virul. Spirochätenblut (70 Proz. Todesfälle)	—	+	++	+++	+	+	+	—	+	+	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	Nach 21 Tag. Entblut. u. Gehirnverimpf.	—	—
2		—	+	++	+++	+++	—	—	+	—	+	++	++	++	—	—	—	—	—	—	—	—		—	—
3		—	—	+	++	+++	+++	—	++	+++	+++	+++	+++	—	—	—	+	—	—	—	—	+		—	—
4		—	++	++	+++	++	—	—	—	++	+++	+++	—	—	—	++	+	—	—	—	—	—	++	+++	++
5		—	—	—	+	—	—	—	—	—	—	+	—	—	—	+	+	+	+	+	+	++	—	—	—
6		—	—	—	+	++	+++	—	+	—	—	++	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
7		—	—	—	+	+++	+	—	+	—	+	++	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
8		—	—	+	++	+++	++	—	—	—	—	—	—	+	—	—	—	+	+	—	—	—	—	—	+
9		—	—	+	+++	+++	++	+	+	+	—	—	—	+	+	—	—	—	—	—	+	—	—	—	—
10		.	+	+	+++	+++	++	+	—	+	—	—	—	++	+	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
11		—	+	++	+++	+++	+++	+	—	—	—	—	+	+++	++	+	—	—	—	—	—	—	—	—	+
12		—	+	+	+++	+++	++	+	—	—	—	—	+	++	+	—	—	—	—	—	+	—	—	—	—

Ergebnis: 21 Tage nach der Infektion 2 Fälle, darunter 2 positive Gehirnbefunde = 100 Proz.
32 „ „ „ „ 3 „ „ 1 positiver Gehirnbefund = 33 „
36 „ „ „ „ 5 „ „ 1 „ = 20 „
10 Fälle, 4 positive Gehirnbefunde = 40 Proz.

Die Mäuse Nr. 3 und 4 fallen für die Berechnung aus.

und Kroó beobachtete Haften der Recurrensspirochäten bei normalem Infektionsverlauf in der Gehirnsubstanz stattfindet. Zu diesem Zweck wurden 3 Reihen Mäuse 21, 32 und 36 Tage nach der perkutanen Infektion entblutet und die mit steriler isotonischer Kochsalzlösung im Mörser verriebenen Gehirne auf gesunde Tiere verimpft. Die Ergebnisse dieser Versuche gibt die Tabelle I wieder.

Man ersieht daraus, daß die perkutan geimpften Tiere bei mikroskopischer Blutuntersuchung 2 bis 5 Anfälle erkennen lassen. Tier Nr. 3 ist beispielsweise noch 5 Tage nach dem 5. Anfall, der 3 Tage dauerte, verendet. Im übrigen ergab sich, daß bei 2 Tieren (Nr. 1 u. 2), die 21 Tage nach der Einspritzung mikroskopisch parasitenfrei befunden und entblutet wirden, in beiden Fällen (100%) durch Abimpfung im Gehirn noch Spirochäten nachzuweisen waren. Nr. 1 war bereits seit 12 Tagen vor der Entblutung mikroskopisch frei von Parasiten befunden worden, Nr. 2 seit 9 Tagen. Bei 3 (Nr. 5—7) Mäusen war das Gehirn 32 Tage nach der Einspritzung nur noch in 1 Falle infektiös (33 Proz.) und bei 5 Tieren 36 Tage nach der Infektion ebenfalls nur 1mal (20 Proz.). In den letztgenannten 5 Fällen (Nr. 8—12) war außer dem Gehirn auch das Blut auf gesunde Mäuse verimpft worden, in allen Fällen ohne eine Infektion auszulösen. Die Mäuse Nr. 3 und 4 sind für die Fragestellung nicht verwertbar.

Als wichtiges Ergebnis für die Beurteilung ist mithin festzustellen, daß auch bei Mäusen, die mikroskopisch lange Zeit frei von Blutparasiten befunden wurden (im Fall 5 beispielsweise 14 Tage, im Fall 12 sogar 23 Tage), das Gehirn noch Parasiten enthalten kann, daß sich die Parasiten entsprechend den Angaben von Buschke und Kroó im Gehirn länger halten als im Blut, daß aber endlich das Vorhandensein von Parasiten im Gehirn weder ein regelmäßiges noch ein dauerndes war, sondern an Häufigkeit mit der Dauer der Infektion allmählich abnahm, denn 36 Tage dach der experimentellen Infektion ließ sich die Erscheinung in 4 von 5 Fällen nicht mehr nachweisen.

Es bleibt zu prüfen, ob bei der perkutanen Infektionsmethode auch solche Mäuse noch infektiöse Spirochäten in der Gehirnsubstanz haben, deren Infektion länger als 5 Wochen, und, wie Buschke und Kroó angeben, sogar 15 Wochen zurückliegt. In einer Versuchsreihe von 6 Mäusen (Nr. 7—12 der Tabelle VI), die 7—13 Wochen nach der ersten Perkutaninfektion zum 2. Male infiziert wurden, ohne Blutbefund zu zeigen, ließ sich später durch Verimpfung keine Gehirninfektion feststellen.

Da diese Versuchsanordnung mir nicht ganz beweisend erschien, habe ich inzwischen einen weiteren Versuch mit 14 Mäusen angestellt, die Mitte Dezember 1923 perkutan mit Recurrensblut erfolgreich infiziert wurden. 7 von ihnen waren 3 Monate später noch am Leben. Ich reinfizierte am 18. 3. 24 drei Mäuse mit dem homologen Stamm und verimpfte das Gehirn der 4 anderen auf 8 gesunde Mäuse. Sämtliche 8 Gehirnmäuse blieben frei von Blutinfektion. Die 3 zum zweiten Male infizierten Tiere zeigten sämtlich eine starke Infektion und keine Zeichen einer Immunität. Aus dem Ergebnis dieses Versuchs ist also erstens zu entnehmen, daß in diesem Falle bei 3 Mäusen 12 Wochen nach der Erstinfektion keine Immunität mehr bestand, und daß zu der

gleichen Zeit bei 4 Mäusen keine Spirochäten in der Gehirnsubstanz vorhanden waren. Im Sinne von Buschke und Kroó wäre das Ergebnis so zu deuten, daß die Immunität deshalb erloschen war, weil die Restparasiten aus dem Gehirn zu der Zeit bereits verschwunden waren, die Infektion also auch in latenter Form zu besehen aufgehört hatte. Andererseits steht aber das Ergebnis mit den Befunden von Buschke und Kroó insofern in Widerspruch, als sowohl das Aufhören der latenten Gehirninfektion als auch der völlige Verlust der Blutimmunität nach Ablauf von 12 Wochen nach der Erstinfektion ungewöhnlich ist. Es kann also eine Erklärung des Versuches auch in

Tabelle II.

10 am 29. 6. perkutan mit Recurrensblut infizierte Mäuse werden mit Neosalvarsan iv. (entweder 1mal je 5 mg oder 2mal je 3 mg) behandelt. 3 und 5 Tage später werden die Mäuse entblutet. Das Blut wird auf je eine, das Gehirn auf je 2 Mäuse verimpft. ‖ = 0,005 Neosalvarsan, ‖ ‖ = je 0.003 Neosalvarsan, | Termin der Weiterimpfung.

Infektion	30. 6.	1. 7.	2. 7.	3. 7.	4. 7.	5. 7.	6. 7.	7. 7.	8. 7.	9. 7.	10. 7.	11. 7.
Nr. 1	—	+ ‖	—	—	Blut und Gehirn 3 Tage nach der Behandlung verimpft	— Blut — Gehirn — Gehirn	—	—	—	—	—	Bei der 14 Tage lang fortgesetzten mikroskopischen Blutuntersuchung fanden sich in keinem Falle Recurrensspirochäten im Blute dieser Tiere.
„ 2	—	+ ‖	—	—		— Blut — Gehirn — Gehirn	—	—	—	—	—	
„ 3	—	+ ‖	—	—		— Blut — Gehirn — Gehirn	—	—	—	—	—	
„ 4	—	+ ‖	—	—		— Blut — Gehirn — Gehirn	—	—	—	—	—	
„ 5	—	+ ‖	—	—		— Blut — Gehirn — Gehirn	—	—	—	—	—	
„ 6	—	+ ‖	—	— ‖	—	—	—	—	Blut und Gehirn 5 Tage nach der Behandlung verimpft	— Blut — Gehirn — Gehirn	—	
„ 7	—	+ ‖	—	— ‖	—	—	—	—		— Blut — Gehirn — Gehirn	—	
„ 8	—	+ ‖	—	— ‖	—	—	—	—		— Blut — Gehirn — Gehirn	—	
„ 9	—	+ ‖	—	— ‖	—	—	—	—		— Blut — Gehirn — Gehirn	—	
„ 10	—	+ ‖	—	— ‖	—	—	—	—		— Blut — Gehirn — Gehirn	—	

Ergebnis: Bei 10 am 3. Tage nach der Einspritzung mit Neosalvarsan behandelten Tieren ließ sich in keinem Falle ein Vorhandensein von Parasiten in der Gehirnsubstanz nachweisen.

dem Sinne erfolgen, daß die Regel, wonach eine einmalige Infektion bei Mäusen eine andauernde latente Gehirninfektion und mehrmonatige Immunität im Gefolge hat, viele Ausnahmen hat. Eine unzweideutige Beantwortung der Fragestellung, ob zu einer Zeit, in der die Parasiten auch aus dem Gehirn völlig verschwunden sind, wohl Immunität besteht, ist allerdings durch diesen Versuch nicht erfolgt.

Der Parasitenbefund in der Gehirnsubstanz nach Salvarsanbehandlung der Recurrensinfektion.

In einer 2. Reihe von Versuchen wurde die Frage untersucht, ob und in welcher Weise diese Verhältnisse beeinflußt werden, wenn man an Stelle des normalen Infektionsverlaufes eine Salvarsantherapie vornimmt. Hierüber geben die folgenden Zusammenstellungen (Tabelle II und III) Auskunft:

Tabelle

Erklärungen der Tabelle

Infektion	31. 7.	1. 8.	2. 8.	3. 8.	4. 8.	5. 8.	6. 8.	7. 8.	8. 8.	9. 8.	10. 8.	11. 8.	12. 8.	13. 8.	14. 8.	15. 8.	16. 8.	17. 8.	18. 8.	19. 8.	20. 8.	21. 8.
Nr. 1	Perkutane Impfung mit virulenten Spirochäten.	—	—	—	—	+ ‖	++	—	— ‖	-	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
„ 2		—	—	—	—	+ ‖	—	—	— ‖	-	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
„ 3		—	—	—	—	++‖	—	—	— ‖	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
„ 4		—	—	—	+ ‖	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
„ 5		—	—	+	++ ‖	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
„ 6		—	—	++	+++‖	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
„ 7		—	—	+	+++‖	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
„ 8		—	—	—	+	++‖	—	—	— ‖	—	—	—	—	—	—	—	++	+++	—	—	—	+++

Ergebnis: Unter 8 mit Neosalvarsan behandelten Tieren wurden in einem Falle

10 Mäuse wurden perkutan infiziert und zeigten bei Dunkelfelduntersuchung bereits am darauffolgenden Tage Recurrensspirochäten im Blut. Am gleichen Tage erhielten 5 dieser Mäuse die auch von

Buschke und Kroó angewandte starke Heildosis 5 mg Neosalvarsan intravenös, die restlichen 5 Mäuse eine Gabe von 3 mg, die 2 Tage später noch einmal verabfolgt wurde. 3 bzw. 5 Tage nach der Behandlung wurden die Tiere entblutet. Das Blut jeder Maus wurde auf eine weitere gesunde Maus verimpft, das Gehirn auf je 2 Mäuse. Die mikroskopische Blutuntersuchung ergab dann, daß sämtliche 10 Blutmäuse und sämtliche 20 Gehirnmäuse im Dunkelfeld keine Blutinfektion erkennen ließen. Daraus geht hervor, daß durch die frühzeitige Neosalvarsanbehandlung mit allerdings starken Dosen alle Parasiten abgetötet worden waren, auch die etwa bereits ins Gehirn eingedrungenen. Man kann allerdings wohl annehmen, daß so kurze Zeit nach der Infektion die Parasiten nur in beschränktem Maße im Zentralnervensystem Eingang gefunden haben. Außerdem könnte gegen die Beweiskraft dieser Versuche der Einwand erhoben werden, daß die Verimpfung von Blut und Gehirn

III.
wie bei der vorhergehenden.

22. 8.	23. 8.	24. 8.	25. 8.	26. 8.	27. 8.	28. 8.	29. 8.	30. 8.	31. 8.	1. 9.	2. 9.	3. 9.	4. 9.
Gehirn u. Blut 2 Wochen nach d. Behandl. verimpft	Blut — / — / — Gehirn; Blut — / — / — Gehirn; Blut — / — / — Gehirn	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
+	+	+	+	—	—	—	—	—	++	—	—	—	—

Blut und Gehirn 4 Wochen nach der Behandlung weitergeimpft: — Blut / — Gehirn; — Blut / — Gehirn; — Blut / — Gehirn; — Blut / — Gehirn

Bei 14 Tage lang fortgesetzter Blutkontrolle fanden sich im Dunkelfeld in keinem Falle Recurrensspirochät. im Blut d. Tiere

—	—	—	—
0,004 i. v.	— Blut	—	—
	— Gehirn	—	+
	— Gehirn	—	—

—	—	+
—	+	+
—	—	+

durch Abimpfung Parasiten festgestellt, und zwar sowohl im Blute als auch im Gehirn.

auf gesunde Tiere zu kurze Zeit nach der Neosalvarsanbehandlung erfolgt ist. Deshalb wurden noch die in der folgenden Tabelle III zusammengestellten Heilversuche gemacht, bei denen 1mal (Maus 1—3)

14 Tage nach der Doppelinjektion von je 3 mg, ein anderes Mal (Maus 4—7) 4 Wochen nach der einmaligen Gabe von 5 mg gewartet wurde, ehe die Entblutung und Weiterimpfung vorgenommen wurde. In diesem Falle wäre eine Beeinflussung der Ergebnisse durch eine nur vorübergehende Schädigung der Spirochäten oder durch Mitübertragung von organgebundenem Salvarsan wohl auszuschließen. Auch in allen diesen Fällen ließ sich ein Vorhandensein von „Restspirochäten" im Gehirn nicht feststellen. Eine Ausnahme von der Regel stellt in dieser Tabelle III Maus Nr. 8 dar, die mit einer Doppelspritze von je 3 mg Neosalvarsan behandelt wurde. In diesem Falle verschwanden die Blutparasiten zwar, wie gewöhnlich, im Anschluß an die 1. Behandlung aus dem Blut, doch hatte das Tier dann doch noch 3 Rezidive, so daß am 36. Infektionstage, 5 Tage nach dem letzten Rezidiv, noch einmal eine Dosis von 4 mg intravenös verabfolgt wurde. 2 Tage nach dieser letzten Behandlung wurde die Maus getötet. Blut und Gehirn erwiesen sich indes trotz dieser dreimaligen Neosalvarsanbehandlung bei der Verimpfung auf gesunde Tiere noch als infektiös. Als Erklärung für dieses abweichende Verhalten kommt der Umstand in Frage, daß die 1. intravenöse Einspritzung von 3 mg verunglückt war, so daß die Maus tatsächlich wahrscheinlich nur eine unzureichende kleine Gabe bekommen hat. Dadurch ist der Heilungsverlauf offensichtlich in ungünstigem Sinne beeinflußt worden. Der Versuch hat Anlaß gegeben, den Einfluß subtherapeutischer Neosalvarsangaben genauer zu untersuchen, so daß ich bei Besprechung einer späteren Tabelle noch einmal darauf zurückkommen werde.

Wir wissen aus der Praxis der Syphilisbehandlung und aus den Untersuchungen von Kolle (Dtsch. med. Wochenschr. 1922. S. 1381) über Abortivbehandlung bei der experimentellen Kaninchensyphilis, daß die Bedingungen für eine Therapia sterilisans um so ungünstiger werden, je mehr Zeit zwischen Infektion und Beginn der Behandlung liegt. Das ist bei Krankheiten mit derartig chronischem Verlauf wie Syphilis und Tuberkulose verständlich und könnte auch bei einer Infektionskrankheit, die beim Menschen in mehreren Schüben auftritt, wie das Rückfallfieber, in die Erscheinung treten. Aus diesem Grunde wurden die in der folgenden Tabelle zusammengestellten Versuche vorgenommen, die sich in der Anlage von den eben besprochenen im wesentlichen dadurch unterscheiden, daß die Behandlung mit Neosalvarsan nicht am 1. Tage der mikroskopisch festgestellten Blutinfektion vorgenommen wurde, sondern in verschiedenen späteren Zeitabständen, nämlich 3 Tage, 8 Tage, 14 Tage und 3 Wochen, nachdem erstmalig die erfolgte Blutinfektion nach perkutaner Impfmethode mikroskopisch festgestellt war. Nach diesen Zeitabständen wurde eine einmalige Gabe von 5 mg Neosalvarsan verabfolgt. Nachdem der Erfolg der Behandlung 7 Tage lang mikroskopisch kontrolliert worden war, wurden die geheilten Tiere durch Halsschnitt entblutet und eine Verimpfung des Blutes auf je 1, des Gehirns auf je 2 neue Mäuse angeschlossen.

Man sieht aus diesen Zusammenstellungen (Tabelle IVa und IVb) zunächst, daß die am 3. Tage nach dem Auftreten der Parasiten im Blut behandelten Mäuse sich nicht anders verhalten als die am 1. Infektionstage behandelten Tiere der vorigen Tabelle: bei 3 Mäusen war nach der Neosalvarsanbehandlung im Blut und im Gehirn kein Vorhandensein von „Restparasiten" festzustellen. Da die

Tabelle IVa.

Versuchsanordnung wie in den vorigen Tabellen, mit dem Unterschiede, daß die Behandlung teils (Nr. 1—3) 3 Tage, teils (Nr. 4—9) 8 Tage nach dem ersten Auftreten der Parasiten im Blute stattfand. Neosalvarsandosis 5 mg pro Maus.

Infektionstag	1. 10.	2. 10.	3. 10.	4. 10.	5. 10.	6. 10.	7. 10.	8. 10.	9. 10.	10. 10.	11. 10.	12. 10.	13. 10.	14. 10.	15. 10.	16. 10.	17. 10.	18. 10.	19. 10.	20. 10.	21. 10.	22. 10.	23. 10.	24. 10.	25. 10.	26. 10.	27. 10.	28. 10.	29. 10.	30. 10.
Nr. 1	—	+	+	+	—	—	—	—	—	—	—	—	— Blut — Gehirn	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
„ 2	—	+	+ + +	+ +	—	—	—	—	—	—	—	—	— Blut	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
„ 3	—	+	+ +	—	—	—	—	—	—	—	—	—	— Blut — Gehirn	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
„ 4	—	+	+ + +	—	—	—	—	—	+	+	—	—	— Blut — Gehirn	—	—	—	— Blut — Gehirn	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
„ 5	—	+	+ + +	+ +	—	+	—	—	+	+	—	—	— Blut — Gehirn	—	—	—	— Blut — Gehirn	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
„ 6	—	+ +	+ + +	+ + +	—	—	+	—	+ +	+	—	—	— Blut — Gehirn	—	—	—	— Blut — Gehirn	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
„ 7	—	—	+ +	+ + +	+ + + +	+	+ +	—	—	+	—	—	— Blut — Gehirn	—	—	—	— Blut — Gehirn	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
„ 8	—	—	+	+ + +	+ +	—	—	+	+	+	—	—	— Blut — Gehirn	—	—	—	— Blut — Gehirn	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
„ 9	—	+	+ +	—	—	—	—	—	+ +	— [1]	—	—	— Blut — Gehirn	—	—	—	— Blut — Gehirn	—	†	—	+ + +	—	—	+	+ +	—	—	—	+	—

Neosalvarsan iv. 5 mg

Bei 14 Tage lang fortgesetzter Blutuntersuchung kein Parasitenbefund im Dunkelfelde

Ergebnis: Im Fall 9 ließ sich trotz Neosalvarsan ein Parasitenbefund im Gehirn erheben.

1) In diesem Falle ist die intravenöse Einspritzung nicht ganz geglückt.

Tal

Bemerkungen wie vorige Tabelle. Das Zeichen ○ bedeute

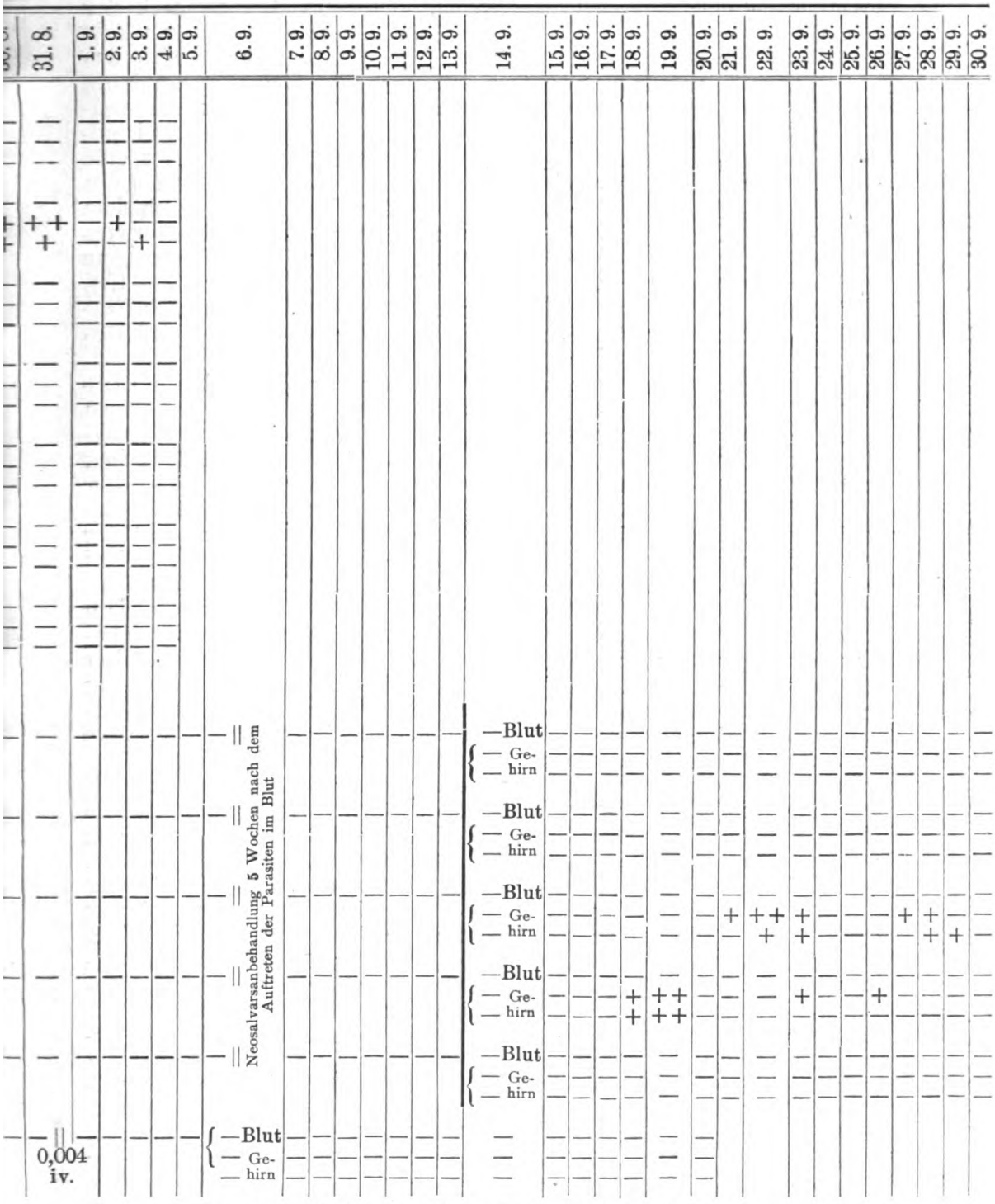
Infekt.-Tag	31. 7.	1. 8.	2. 8.	3. 8.	4. 8.	5. 8.	6. 8.	7. 8.	8. 8.	9. 8.	10. 8.	11. 8.	12. 8.	13. 8.	14. 8.	15. 8.	16. 8.	17. 8.	18. 8.	19. 8.	20. 8.	21. 8.	22. 8.	23. 8.	24. 8.	25. 8.	26. 8.
Nr. 1	Perkutane Impfung	—	—	+	○	○	○	+	○	—	○	○	—	○	—	○	—	—	—	—	—	—	—	—	—Blut — Gehirn	—	—
„ 2		—	—	+	○	○	○	—	○	—	○	○	—	○	—	○	—	—	—	—	—	—	—	—	—Blut — Gehirn	—	—
„ 3		—	—	+	○	○	○	+	○	+	○	○	—	○	—	○	—	—	—	—	—	—	—	—	—Blut — Gehirn	—	—
„ 4		—	+	+	○	○	○	+	○	+	○	○	—	○	—	○	—	—	—	—	—	—	—	—	—Blut — Gehirn	—	—
„ 5		—	—	+	○	○	○	+	○	—	○	○	—	○	—	○	+	—	—	—	—	—	—	—	—Blut — Gehirn	—	—
„ 6		—	—	+	○	○	○	++	○	—	○	○	—	○	—	○	+	—	—	—	—	—	—	—	—Blut — Gehirn	—	—
„ 7		—	—	+	○	○	○	+	○	—	○	○	—	○	+	○	—	—	—	—	—	—	—	—	—Blut — Gehirn	—	—
„ 8 „ 9		Zwei weitere Fälle von Perkutaninfektion mit negativem Gehirnbefund nach Salvarsan-behandlung																									
„ 10		—	—	+	○	○	○	—	○	+++	○	○	—	○	—	○	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
„ 11		—	—	+	○	○	○	—	○	+	○	○	—	○	—	○	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
„ 12		—	—	+	○	○	○	—	○	++	○	○	—	○	+	○	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
„ 13		—	—	+	○	○	○	++	○	+	○	○	—	○	—	○	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
„ 14		—	—	+	○	○	○	—	○	+	○	○	+	○	—	○	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
„ 15		—	—	—	—	—	—	+	+++	—	—	++	—	—	+	—	—	—	++	++	—	—	—	—	—	—	—

Neosalvarsanbehandlung 2 Wochen nach dem Auftreten der Parasiten im Blut

Ergebnis: Bei Nr. 1—9 fand die Neosalvarsanbehandlung 2 Wochen nach dem Auftreten der Parasiten im Blut statt: 1 Fall von Gehirninfektion trotz der Behandlung.

b.

Mäuse an dem betreffenden Tage nicht untersucht wurden.



Bei Nr. 10—15 fand die Behandlung 5 Wochen nach dem Auftreten der Parasiten im Blut statt: 2 Fälle von Gehirninfektion trotz der Behandlung.

Tiere zu dieser Zeit bereits auf der Höhe der Infektion angelangt waren, müßte man hier bereits mit einer häufigeren Anwesenheit von Parasiten im Gehirnparenchym rechnen. Bei sechs 8 Tage nach der Infektion in Behandlung genommenen Mäusen, die sich also zur Zeit der Behandlung bereits im Rezidivstadium befanden, erwies sich das Gehirn in 1 Falle infektiös, während das Blut keine Erkrankung hervorrief. Dieser Versuch Nr. 9 ist deswegen nicht ganz einwandfrei, weil die intravenöse Salvarsaninjektion nicht einwandfrei gelungen war; es besteht also die Wahrscheinlichkeit, daß die Maus eine subtherapeutische Neosalvarsandosis erhalten hat. In der nächsten Reihe von 9 Tieren (Tabelle IVb, Nr. 1—9), die 14 Tage nach dem Eintritt der Blutinfektion in Behandlung genommen wurden, erwies sich das Gehirn 1mal noch als ansteckungsfähig bei gleichzeitigem negativen Verhalten des Blutes. In der letzten Reihe (Nr. 10—15), wo die Behandlung erst 5 Wochen (im Fall 15 drei Wochen) nach Eintritt der Blutinfektion vorgenommen wurde, war in 6 Fällen das Gehirn 2mal infektiös.

Die Ergebnisse der Tabelle IVa und IVb zeigen also zunächst einmal, daß entsprechend den Erfahrungen von Kolle bei experimenteller Syphilis auch bei experimenteller Recurrens die Aussichten der Abortivbehandlung bezüglich Sterilisierung erheblich besser sind als die der späten Therapie. Dann aber fällt in dieser Zusammenstellung insofern ein erheblicher Unterschied gegenüber den Ergebnissen von Buschke und Kroó auf, als sich bei frühzeitiger Behandlung überhaupt kein Zurückbleiben von infektionstüchtigen Recurrensspirochäten im Gehirn feststellen ließ, während sich die Erscheinung bei Spätbehandlung zwar nachweisen ließ, aber auch nur in der Minderzahl der Fälle. Dieser Unterschied ist für die Beurteilung der Verhältnisse insofern beachtenswert, als Buschke und Kroó beispielsweise in einer Untersuchungsreihe von 10 Tieren, die am 2. Tage der Blutinfektion mit Neosalvarsan behandelt wurden, bei 7 Tieren Restparasiten im Gehirn fanden, während bei mir unter etwa gleichen Verhältnissen (vgl. Tabelle III und IVa Nr. 1—8) überhaupt keine derartigen Gehirnbefunde, und in den übrigen Fällen der Spätbehandlung nur in der Minderzahl positive Ergebnisse, höchstens (IVb Nr. 10—15) in einem Drittel der Untersuchungen zu erheben waren. Die Abweichung im Infektionsmodus — bei Buschke und Kroó subkutan, bei mir perkutan — scheint mir als Erklärung für diese Unterschiede nicht in Frage zu kommen, und eine andere Aufklärung für diese Unstimmigkeit ist nicht erweislich. Es käme zwar, wenn man von allen technischen Fehlerquellen absehen will, eine Erklärungsmöglichkeit in Betracht, nämlich die, daß eine ungenügende Salvarsantherapie die Ursache für das Zurückbleiben von „Restparasiten" im Gehirn sein kann und vielleicht die Einwanderung von Spirochäten in das Zentralnervensystem sogar in merklicher Weise begünstigt. Nach den praktischen Erfahrungen von Gennerich bei der Therapie der menschlichen Syphilis muß man mit derartigen Nachteilen bei ungenügender Salvarsanbehandlung wohl rechnen. Das von mir bereits besprochene Einzelergebnis der Tabelle III Nr. 8 spricht wohl in dem Sinne, daß ähnliche Folgeerscheinungen auch bei Recurrens denkbar sind. Buschke und Kroó lehnen allerdings diese Erklärungsmöglichkeit

ab, und da sie ja mit großen Dosen behandelt haben, käme diese Erklärung nur für die Fälle in Frage, in denen die intravenöse Verabfolgung nicht rite gelingt. Gleichwohl habe ich dieser Möglichkeit, daß nämlich subtherapeutische Salvarsandosen das Zurückbleiben von Recurrensspirochäten in der Gehirnsubstanz begünstigen, experimentell näherzutreten versucht und den folgenden Versuch ausgeführt.

Tabelle V.

7 intraperitoneal am 30. Okt. 1923 infizierte Mäuse werden 3 und 6 Tage nach dem ersten Auftreten der Blutparasiten mit 1,5 und 1 mg Neosalvarsan behandelt, um den Einfluß kleinerer Salvarsandosen auf die Gehirninfektion zu untersuchen. 7 Tage nach der letzten Behandlung werden die Tiere getötet. Das ganze Gehirn jedes Tieres wird auf eine neue Maus verimpft.

1. 11.	2. 11.	3. 11.		4. 11.	5. 11.	6. 11.		7. 11.	8. 11.	9. 11.	10. 11.	11. 11.	12. 11.	13. 11.		14. 11.	15. 11.	16. 11.	17. 11.	18. 11.	19. 11.	20. 11.	21. 11.	22. 11.	23. 11.	24. 11.	25. 11.	26. 11.	27. 11.
+	++	++	Neosalvarsaninjektion 1,5 mg iv.	—	—	—	Neosalvarsaninjektion 1 mg iv.	—	—	—	—	—	—	—	Entblutung und Verimpfung d. ganzen Gehirns auf je eine Maus	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
+	++	++		++	—	—		—	—	—	—	—	—	—		—	—	—	—	—	—	—	+	—	—	—	—	—	—
+	+++	—		—	—	—		—	—	—	—	—	—	—		—	—	—	—	+	+	—	—	—	—	—	—	—	—
+	+++	—		—	—	—		—	—	—	—	—	—	—		—	—	—	—	—	+	—	—	—	—	—	—	—	—
+	+++	+		—	—	—		—	—	—	—	—	—	—		—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
+	+++	+++		—	—	—		—	—	—	—	—	—	—		—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—

Ergebnis: Unter 7 am 3. und 6. Tage nach dem ersten Auftreten der Parasiten im Blut mit kleinen Neosalvarsandosen behandelten Tieren lassen sich bei 3 durch Tierimpfung Restparasiten im Gehirn nachweisen.

In einem zweiten Versuch mit 7 Mäusen, dessen Protokoll nicht wiedergegeben zu werden braucht, fand die Neosalvarsanbehandlung erst 14 Tage nach dem ersten Auftreten der Parasiten im Blut statt. Keine positiven Gehirnimpfungen.

7 intraperitoneal mit Recurrensblut infizierte Mäuse wurden, nachdem die eingetretene Blutinfektion 3 Tage lang mikroskopisch verfolgt worden war, mit $1^1/_2$ mg Salvarsan intravenös behandelt. 3 Tage später wurde eine zweite Gabe von 1 mg Neosalvarsan gegeben und nach Verlauf von weiteren 7 Tagen bei negativem mikroskopischen Blutbefund das ganze Gehirn der entbluteten Tiere auf je eine neue Maus verimpft. Von diesen 7 Mäusen wurden 3 in der Folge infiziert; allerdings handelte es sich in allen Fällen um eine leichte Infektion, so daß man eine Schädigung des Virus durch die vorausgegangene Neosalvarsanbehandlung annehmen kann. Ein zweiter in ähnlicher Weise angelegter Versuch, bei dem mir die Bedingungen für ein Eindringen der Recurrensspirochäten in die Gehirnsubstanz a priori günstiger zu liegen schienen, weil zwischen der Infektion und der ersten Neosalvarsanbehandlung ein Zeitraum von 2 Wochen lag, verlief gegen alle Erwartung ganz ergebnislos, d. h. die Gehirnverimpfung dieser sieben Mäuse auf andere Tiere führte in keinem Falle zu einer Infektion. Auf die protokollarische Wiedergabe dieses Versuches konnte mithin verzichtet werden.

Man kann gegen diese Versuchsanordnung den Einwand erheben, daß die angewandten Dosen von 1 und $1^1/_2$ mg, also zusammen $2^1/_2$ mg, immer noch eine verhältnismäßig große Gabe für Mäuse sind, und könnte vermuten, daß die Ergebnisse bei geeigneter Herabsetzung der Dosen auf etwa $^1/_2$ mg beweisender ausfallen würden. Immerhin

spricht der Versuch doch in dem Sinne, daß bei der Behandlung mit kleinen Neosalvarsandosen die Parasiten im Gehirn häufiger der Abtötung entgehen als bei der Anwendung von heroischen Gaben.

Andererseits geht aber aus dieser Zusammenstellung hervor, daß auch bei Anwendung des intraperitonealen Infektionsmodus statt des in den vorangegangenen Versuchen angewandten perkutanen das Zurückbleiben von infektionsfähigen Spirochäten im Gehirn nur in einer Minderheit der Fälle vorzukommen braucht.

Die Bedeutung der Restparasiten für die Immunität.

Es blieb weiterhin die von Buschke und Kroó aufgeworfene Frage zu untersuchen, ob die experimentelle Recurrensinfektion bei normalem Verlauf zu einer sterilen Immunität führt, wie man es auf Grund des bisherigen Standes unserer Kenntnis annahm, oder ob diese Immunität ebenso wie die Immunität bei Syphilis an das Bestehen einer latenten Infektion mit Vorhandensein von Parasiten in den inneren Organen, besonders im Gehirn, gebunden ist und mit dem Untergang dieser „Restparasiten" wieder verschwindet. Die Zweifel in dieser Beziehung sind sicherlich berechtigt, wenn man mit Buschke und Kroó annimmt, daß der überwiegende Teil der Recurrensmäuse nicht steril wird, sondern zu einer Zeit, in der das Blut des genesenen Tieres

Tabelle VI.

Die 12 in diesem Versuch benutzten Mäuse waren 7—13 Wochen vorher schon einmal perkutan mit Erfolg infiziert worden, darunter vier 7 Wochen, zwei 8 Wochen, zwei 10 Wochen und vier 13 Wochen früher. Sie wurden am 1. Nov. intraperitoneal reinfiziert. Nr. 1—6 wurden 7 Tage später mit Neosalvarsan behandelt und nach weiteren 7 Tagen zum dritten Mal einer Infektion unterzogen. Nr. 7—12 blieben ohne Behandlung und wurden 14 Tage nach der 2. Infektion entblutet; je ein Gehirn wurde auf eine weitere Maus verimpft.

Nr.	1. 11.	2. 11.	3. 11.	4. 11.	5. 11.	6. 11.	7. 11.	8. 11.	9. 11.	10. 11.	11. 11.	12. 11.	13. 11.	14. 11.	15. 11.	16. 11.	17. 11.	18. 11.
1	Intraperitoneale Injektion von Spirochätenblut (Reinfektion)							5 mg Neosalvarsan iv.							2. Reinfektion mit Spirochätenblut			Bei 14 Tage fortgesetzter Blutuntersuchung nirgends Parasiten nachzuweisen
2																		
3																		
4																		
5																		
6																		
7								Kontrolltiere							Die 6 Kontrolltiere entblutet; je ein Gehirn auf eine Maus verimpft			
8																		
9																		
10																		
11																		
12																		

Ergebnis: a) 12 Mäuse, die 7—13 Wochen vorher perkutan infiziert worden waren, zeigten bei der intraperitonealen Reinfektion keine Parasiten im Blut (Dunkelfeldbeobachtung).

b) 6 von diesen Immunmäusen (Nr. 1—6) zeigten auch nach Neosalvarsanbehandlung keinen Verlust der Blutimmunität.

c) Bei den 6 weiteren Mäusen (Nr. 7—12) lassen sich im Gehirn keine Restparasiten durch Verimpfung nachweisen.

sich auch bei der Verimpfung auf gesunde Mäuse parasitenfrei zeigt, infektionsfähige Spirochäten im Gehirn behält. Nach meinen Ergebnissen ist allerdings das Zurückbleiben von „Restparasiten" im Gehirn zeitlich begrenzt (vgl. Tabelle I), denn 36 Tage nach der Infektion fand ich sie nur noch bei 20 Proz. der Tiere, während sie nach 21 Tagen bei 100 Proz. nachweisbar waren. Wenn also die Schlußfolgerung von Buschke und Kroó zu Recht besteht, daß die Immunität bei Mäuserecurrens an das Vorhandensein von Restparasiten im Gehirn gebunden ist, dann müßte sie nach meinen Ergebnissen etwa 5—7 Wochen nach der Infektion nur noch bei einem kleinen Teil der Tiere nachweisbar sein. Das ist aber, wie die folgende Tabelle zeigt, nicht der Fall (Tabelle VI).

Bei den hier verwendeten Tieren lag die perkutane Infektion zur Zeit des Versuchsbeginns mindestens 7 und höchstens 13 Wochen zurück. Bei der Prüfung auf Immunität mittels intraperitonealer Reinfektion zeigte keines der verwendeten 12 Tiere bei Dunkelfelduntersuchung des Blutes Zeichen einer Blutinfektion. 14 Tage später wurden 6 dieser auf Immunität geprüften Tiere (Nr. 7—12) entblutet und das ganze Gehirn wurde auf 6 neue Mäuse verimpft. In keinem Falle ließen sich auf diese Weise „Restparasiten" im Gehirn nachweisen. Bei diesen Tieren hat also eine Immunität ohne latente Infektion bestanden, und die Schlußfolgerung von Buschke und Kroó besteht für diese Fälle nicht zu Recht.

Der Einfluß des Salvarsans auf die Immunität.

6 weitere Mäuse (Nr. 1—6 dieser Tabelle), deren perkutane Erstinfektion ebenfalls mindestens 7 und höchstens 13 Wochen zurücklag, wurden zur Prüfung der letzten durch Buschke und Kroó angeregten Frage verwendet, nämlich ob eine bestehende Immunität durch eine Neosalvarsangabe vermindert oder beseitigt werden kann. Die genannten Autoren konnten nämlich bei 10 Tieren, die am 8. Tage nach der 1. (subkutanen) Infektion und am 6. Tage nach der Einspritzung mit 3 mg Neosalvarsan mit dem homologen Recurrensstamm wiedergeimpft wurden, 9mal eine 2. Blutinfektion erzielen, und da in einer gleichzeitig unter den gleichen Bedingungen angelegten Kontrollreihe von 10 Tieren 7 durch Verimpfung des Gehirns trotz Neosalvarsanbehandlung das Vorhandensein von „Restparasiten" erkennen ließen, schließen sie aus diesen Ergebnissen, daß in 62,5 Proz. der Fälle eine Superinfektion zustande gekommen sein muß.

In meinem Falle wurden die Immunmäuse zu einem Zeitpunkt, der mindestens 7 Wochen hinter der ersten perkutanen Infektion lag, durch eine intraperitoneale Einspritzung mit dem gleichen Blutstamm nachgeimpft, wobei keine mikroskopisch feststellbare Blutinfektion zustande kam, dann nach 7 Tagen mit je 5 mg Neosalvarsan behandelt und nach weiteren 7 Tagen wiederum intraperitoneal infiziert. Alle Tiere zeigten sich nach der Salvarsanbehandlung in gleicher Weise blutimmun wie vor derselben. Der Ausfall entsprach also dem von Buschke und Kroó unter Nr. 3 auf S. 2325 ihrer 1. Arbeit mitgeteilten. Auch diese ebengenannten Versuche der beiden Autoren stehen in auffallendem Gegensatz zu den unter Ziffer 1 und 2 der gleichen Arbeit, bei denen unter ganz ähnlichen Bedingungen in 1 Falle bei 4 Fällen 4mal, im

anderen bei 7 Fällen 2mal durch Neosalvarsanbehandlung eine Aufhebung der Blutimmunität nachzuweisen war.

Zusammenfassung der Ergebnisse.

Wenn ich die Ergebnisse aller durchgeführten Versuchsreihen unter einen gemeinsamen Gesichtswinkel zu bringen versuche, so stellt sich das Ergebnis etwas anders dar, als ich nach den Mitteilungen von Buschke und Kroó erwartet hatte. Zunächst bestätigt sich der von Buschke und Kroó erhobene wichtige Befund, daß die Recurrensspirochäten sich nach dem Ablauf der Blutinfektion in den inneren Organen — ich habe nur das anscheinend am häufigsten beteiligte Gehirn untersucht — der experimentell infizierten Mäuse viel länger am Leben erhalten als im Blut. Ich konnte sie zwar nicht so häufig nachweisen wie Buschke und Kroó (in 10 Fällen 10mal), aber beispielsweise doch noch 2mal unter 5 Tieren, deren perkutane Infektion schon 36 Tage zurücklag. Nach meinen Ergebnissen ist aber das Vorhandensein von Gehirnparasiten nach dem Erlöschen der Blutinfektion zeitlich begrenzt und besteht nicht so lange, als die aktive Immunität erfahrungsgemäß anhält. Es ist bei meiner Versuchsanordnung auch nicht die Regel gewesen, wie Buschke und Kroó feststellten, sondern eine allerdings nicht so seltene Ausnahme von der Regel. So kann ich mich auch nicht zu der Schlußfolgerung verstehen, daß bei der experimentellen Recurrensinfektion die Immunität mit dem Vorhandensein von Restparasiten im Organismus einhergehe und nur so lange andauere, als die Parasiten sich im Organismus finden. Ich möchte mich vielmehr der alten Auffassung anschließen, daß auch unter den Bedingungen der perkutanen Infektion bei Mäusen, die einen dem menschlichen Krankheitsbilde ähnlicheren subakuten Verlauf unter mehreren Rückfällen erzeugt, in der Regel eine sterile Immunität zustande kommt. Das Verharren von Parasiten im Gehirn nach dem Erlöschen der Blutinfektion und die von Buschke und Kroó außerdem festgestellten anatomischen Krankheitserscheinungen im Parenchym des Zentralnervensystems (Gehirn und Rückenmark) sind sehr beachtenswerte neue Befunde, die wohl als Erklärung für die von manchen Recurrensgenesenden noch lange Zeit nach der Wiederherstellung geklagten Störungen in Frage kommen. Als Regel und als Bedingung für das Zustandekommen der Immunität ist die Erscheinung aber nach meinen Ergebnissen nicht anzusehen. In meinen Versuchen nimmt die Zahl der Parasitenträger im Gehirn mit der Dauer der Infektion ab, von 100 Proz. nach 21 Tagen bis zu 20 Proz. nach 36 Tagen. Die Möglichkeit, daß es auch bei dieser Krankheit Dauerträger gibt, ist natürlich nicht von der Hand zu weisen, da sie auf genaueres

Suchen bei den meisten Infektionskrankheiten gefunden worden sind. Epidemiologisch wären die Recurrensspirochätenträger nur dann von Bedeutung, wenn sich von den Herden im Zentralnervensystem aus gelegentliche Blutinfektionen entwickelten, die zur Uebertragung der Krankheit auf Gesunde oder auf Zwischenträger Veranlassung böten, ohne die Träger selbst krank zu machen. Bekanntlich hat schon R. Koch solche klinisch gesunden Blutträger beim afrikanischen Rückfallfieber beobachtet. Als Ursache und Bedingung der Immunität braucht man die Eigenschaft des Parasitentragens aber bei Recurrens ebensowenig anzusehen wie etwa beim Typhus, den Buschke und Kroó als Analogon anführen. Auch bei der Dauerausscheidung von Bazillen nach Typhus handelt es sich wohl eher um den Ausdruck einer unvollkommenen Immunität, die nicht zur völligen Sterilisierung ausgereicht hat, denn absolut immun gegen eine Autoinfektion mit ihren eigenen Bazillen sind ja die Typhusbazillenträger nicht.

Was nun den Einfluß der Salvarsantherapie auf den normalen Verlauf der Recurrensinfektion und insonderheit auf den Parasitenbefund im Gehirn anlangt, so habe ich im Gegensatz zu Buschke und Kroó bei frühzeitiger Behandlung mit großen Dosen (3 und 5 mg je Maus) ein Zurückbleiben von Restparasiten im Gehirn nur in einem einzigen Ausnahmefalle gefunden, den ich mir dadurch erkläre, daß die intravenöse Einspritzung nicht rite gelungen war. In allen anderen Fällen, bei denen die Behandlung bis zu 8 Tagen nach dem 1. Auftreten der Parasiten im Blute vorgenommen worden war, ergab die Verimpfung des Gehirns auf gesunde Mäuse keinen Parasitengehalt. Das war auch dann nicht der Fall, wenn ich die Gehirne erst 2 und 4 Wochen nach der Salvarsanbehandlung verimpfte, um dem Einwande zu begegnen, daß eine kürzere Zeit (2 und 5 Tage) vorher vorgenommene Neosalvarsanbehandlung nur eine Parasitenfreiheit des Organgewebes vortäuscht, indem sie die Verimpfbarkeit des infektiösen Materials beeinträchtigt. Je längere Zeit man aber nach Eintritt der Blutinfektion bis zum Beginn der Salvarsanbehandlung verstreichen läßt, desto geringer werden die Aussichten für eine sichere Sterilisierung des Gehirns anscheinend, denn unter 9 Fällen, bei denen der Eintritt der Blutinfektion 2 Wochen zurücklag, hatte ich 1mal, in 6 Fällen, bei denen bereits 5 Wochen verstrichen waren, 2mal eine positive Gehirninfektion zu verzeichnen. Diese Ergebnisse stellen m. E. keine Bestätigung der Ansicht von Buschke und Kroó dar, die den Satz aufstellen, daß das Salvarsan die experimentelle Recurrens klinisch und hämatologisch zu heilen scheint, aber in einem hohen Prozentsatz der Fälle (70 Proz.) nicht imstande ist, sämtliche Parasiten im Gehirn zu vernichten. Dagegen bilden sie ein Analogon zu

den Ergebnissen von Kolle über die Abortivheilung der experimentellen Kaninchensyphilis.

Kolle konnte bekanntlich nachweisen, daß die Sterilisierung der Kaninchen durch Neosilbersalvarsan bis zum 45. Tage nach der Infektion in einem hohen Prozentsatz gelang, daß sich aber von diesem Zeitpunkt ab eine Sterilisierung auch mit großen Dosen nur selten und nach 90 Tagen überhaupt nicht mehr erzielen läßt. Kolle sieht in diesen Ergebnissen eine experimentelle Bestätigung für die Bedeutung der Frühbehandlung der Syphilis mit großen Salvarsandosen, und in diesem Sinne scheinen mir meine Befunde auch für die Wichtigkeit einer möglichst frühzeitgen Salvarsantherapie bei Recurrens zu sprechen.

Daß auch beim Rückfallfieber nicht nur eine frühzeitige Behandlung, sondern auch die Verwendung großer Dosen von Vorteil ist, ergibt ein Vergleich der auf Tabelle IVa unter Nr. 1—3 angestellten Versuche mit den auf Tabelle V angeführten. Während bei der Verwendung der großen Dosen 3 Tage nach der Infektion und später die Sterilisierung in allen Fällen gelang, ist sie im gleichen Stadium der Krankheit bei der Verwendung von kleinen Dosen in 3 unter 7 Fällen nicht möglich gewesen.

Es bleibt nur noch die von Buschke und Kroó gezogene Schlußfolgerung zu erörtern, daß die normalerweise sich bei der Recurrens entwickelnde Immunität durch die Salvarsanbehandlung beeinflußt, vielleicht vernichtet wird, und dann trotz dem Vorhandensein von Restparasiten eine Superinfektion gelingt. Die beiden Autoren bejahen diese beiden Fragen und weisen damit auf eine neue Erklärungsmöglichkeit für die seit der Salvarsanära häufiger beobachtete Reinfektion bei Syphilis hin, die man bisher als Beweis für die restlose Heilungsmöglichkeit bei der abortiven Syphilistherapie angesehen hat. Ich habe in meinen Untersuchungen keinen Anhaltspunkt für die Verminderung oder Aufhebung einer ausgebildeten Immunität bei Recurrens als Folge einer Neosalvarsanbehandlung gefunden (vgl. Tabelle VI Nr. 1—6), und da ich, wie oben ausgeführt, auch die Zweifel an der Entstehung einer sterilen Immunität im normalen Verlaufe der Recurrensinfektion nicht bestätigen kann, halte ich auch den Beweis nicht für erbracht, daß durch die Versuche von Buschke und Kroó zum ersten Male die Möglichkeit einer Superinfektion bei einer Spirochätose erbracht sei[1]). Dagegen kann man sich wohl vorstellen, daß eine frühe Salvarsanbehandlung das Zustandekommen einer manifesten Immunität verringert oder ganz verhindern kann. Je frühzeitiger die chemotherapeutische Behandlung

1) Der Beweis für die Möglichkeit einer Superinfektion ist dagegen bei der originären Spirochätose der Kaninchen (Sp. cuniculi) erbracht worden (Schereschewsky-Worms u. a.).

einsetzt, desto größer ist die Wahrscheinlichkeit der Abortivheilung, desto weniger Anreiz ist für den befallenen Organismus gegeben, sich der Infektion durch aktive Bildung von Immunkörpern zu erwehren. Die Verhältnisse liegen in diesem Falle ähnlich wie bei der kombinierten Schutzimpfung mit Spirochäten und Immunserum, bei der sich eine aktive Immunität nur in Ausnahmefällen (Hühnerspirochätose) oder in abgeschwächtem Umfange ausbildet (Recurrensspirochäten und Trypanosomen).

Nachdruck verboten.

Die Bedeutung der Reaktion für Gonokokkennährböden (Zitronensäurenährböden).

[Aus der Biologischen Abteilung des Staatlichen Serotherapeutischen Institutes in Wien (Vorstand: Prof. Dr. Ernst Přibram).]

Von **Torahiko Ikoma**, Nagoya (Japan).

Die Züchtung von Gonokokken aus frischem Material gelingt zuweilen leicht, zuweilen aber sehr schwer. Es ist kein Zweifel, daß dies an der Beschaffenheit der Nährsubstrate liegt, auf welchen wir die Gonokokken zu züchten pflegen. Wenn auch im allgemeinen die Züchtung auf alkalischem Aszites- oder Serumagar zu gelingen pflegt, so gibt es doch eine Reihe von Fällen, in welchen diese Nährböden, besonders Serumagar, vollständig versagen. Diese Schwierigkeiten liegen an der Unvollkommenheit unserer Nährböden, welche sich zweifellos nicht für alle Gonokokkenstämme gleich gut eignen. — Bei sorgfältiger Durchsicht der Literatur findet man recht verschiedene, ja widersprechende Angaben:

Während Finger, Ghon und Schlagenhaufer (1), sowie Turró (2) in fast gleichzeitig erschienenen Arbeiten aus dem Jahre 1894 ausdrücklich die Empfindlichkeit des Micrococcus gonorrhoeae gegenüber einem starken Alkaligehalt des Nährbodens hervorhoben und saure oder neutrale Nährböden empfahlen, erschien bereits 1895 eine Arbeit von Hammer (3), in welcher sich dieser Autor ziemlich scharf gegen Turrós Arbeit wendete. Alle späteren Autoren empfehlen durchwegs alkalische Nährböden; es seien nur die Arbeiten von Thalmann (4) und von Lipschütz (5) erwähnt. Die Angaben Thalmanns, obwohl von mancher Seite bestritten, wurden später in alle großen Handbücher [beispielsweise: Kolle u. Wassermann, bearbeitet von J. Koch (6)] übernommen, während die älteren Angaben nicht mehr berücksichtigt wurden.

Die Tatsache, daß einige der Gonokokkenkulturen der hiesigen Institutssammlung ein außerordentlich kümmerliches Wachstum zeigten (Aszitesagar), auf Serumagar (Pferdeserum) überhaupt nicht zum Wachsen gebracht werden konnten, veranlaßte mich, zu versuchen, ob nicht doch die Reaktion des Nährbodens gerade für die schlecht gedeihenden Stämme zu stark alkalisch sei, und setzte anorganische und organische Säuren in verschiedenen Konzentrationen dem Aszitesagar

und Pferdeserumagar zu, wobei sich zeigte, daß ich fast bis zu lackmusneutraler Reaktion gehen mußte, um gutes Wachstum dieser Stämme, besonders auf Pferdeserum, zu erzielen. Während sich die starken anorganischen Säuren, Salzsäure, Schwefelsäure, als wenig geeignet erwiesen, fand ich in der Zitronensäure ein Präparat, das in bestimmten Konzentrationen einen das Wachstum der Gonokokken kräftig fördernden Einfluß ausübte. Dies galt besonders für jene Stämme, deren Wachstum ohne diesen Zusatz ein schlechtes war. Während ich mit dieser Untersuchung beschäftigt war, erschien eine Arbeit von Lorentz (7), in welcher dieser Autor die Milchsäure in bestimmter Konzentration empfiehlt. Lorentz scheint die Arbeit von Finger, Ghon u. Schlagenhaufer, ebenso die von Ghon u. Schlagenhaufer (8) und die von Turró nicht gekannt zu haben, er erwähnt sie wenigstens nirgends; ich ergänzte meine bereits vorliegenden Versuche durch Heranziehung von Milchsäure in äquivalenten Lösungen. Ueber die Resultate werde ich im folgenden berichten und meine Resultate mit jenen von Lorentz vergleichen.

Stamm I (Serumagar mit Zusatz von n-Zitronensäure (n-Milchsäure) in folgenden Mengen):

n-Zitronensäure:	0	0,1	0,2	0.3	0,4	0,5	0,6	0,7	0,8	0,9	1,0 ccm
nach 24 Std.	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
„ 48 „	—	—	—	—	++	[+[1]]	[+[2]]	—	—	—	—
n-Milchsäure											
nach 24 Std.	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
„ 48 „	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
Aszitesagar mit n-Zitronensäure:											
nach 24 Std.	+	—	+	++	+++	+	—	—	—	—	—
„ 48 „	++	+	++	+++	+++	++	+	—	—	—	—
mit n-Milchsäure											
nach 24 Std.	+	—	+	++	++	+	+	+	+	+	+
„ 48 „	++	+	++	+++	++	++	++	++	++	++	++

Stamm II (Serumagar mit n-Zitronensäure (n-Milchsäure) in folgenden Mengen):

n-Zitronensäure											
nach 24 Std.	—	—	—	+	+++	++	+	—	—	—	—
„ 48 „	—	Spur	Spur	+	+++	++	++	—	—	—	—
n-Milchsäure											
nach 24 Std.	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
„ 48 „	—	—	—	—	—	+	—	—	—	—	—
Aszitesagar mit n-Zitronensäure:											
nach 24 Std.	+	++	++	++	+++	++	—	—	—	—	—
„ 48 „	+++	+++	+++	+++	+++	++	[+[3]]	—	—	—	—
mit n-Milchsäure											
nach 24 Std.	++	++	++	++	++	++	++	++	++	+	+
„ 48 „	+++	+++	+++	+++	+++	+++	++	++	++	++	++

1) 8 Kolonien.
2) 4 Kolonien.
3) Eine große Kolonie.

Versuchsanordnung: Zu einem Nährboden, welcher folgende Zusammensetzung hatte:

Rindfleischwasser	100 ccm	Agar	2 g
NaCl	0,5 g	10-proz. NaOH	0,6 ccm
Pepton Witte	1 „	Pferdeserum	20 „

wurden vor Zusatz des Serums, an dessen Stelle auch Aszitesflüssigkeit verwendet wurde, und vor der Sterilisierung verschiedene Mengen von Normal-Zitronensäure, n-Essigsäure, n-Salzsäure, n-Schwefelsäure zugesetzt (0,1—1 ccm) und dieser Nährboden mit Gonokokken beimpft, wobei insbesondere jene Stämme zur Untersuchung herangezogen wurden, welche auf Serumagar nicht, auf Aszitesagar kümmerlich gediehen. Die Ueberimpfung erfolgte mit einer sehr kleinen Oese aus dem Kondenswasser, in welches vor jeder frischen Ueberimpfung die Oese neuerlich eingetaucht wurde. Da die Versuche mit den organischen Säuren wesentlich besser ausfielen als die mit den anorganischen, seien nur die letzteren mitgeteilt.

Außer diesen Versuchsreihen wurde noch eine große Zahl von Laboratoriumskulturen untersucht, stets mit ähnlichen Resultaten. Da aber in den übrigen Fällen keine Reihenversuche mit Milchsäure, sondern nur solche mit Zitronensäure ausgeführt wurden, und die Ergebnisse die gleichen waren, sei hier von der Mitteilung der anderen Untersuchungen Abstand genommen. Die Analyse der obigen Versuchsreihen gibt einige recht bemerkenswerte Resultate: Beide Stämme zeigen auf dem verwendeten Pferdeserum kein Wachstum (Kontrollen mit 0 bezeichnet). Durch Zusatz von n-Zitronensäure in der Menge von 0,4 ccm ließ sich gutes Wachstum des Stammes I und üppiges Wachstum des Stammes II erzielen; diese Wachstumsbegünstigung zeigten auch, wenn auch in schwächerem Maße, die Zusätze von 0,3, 0,5 und 0,6 ccm in der Weise, daß wir von einem Optimum bei 0,4 ccm sprechen können. Ganz anders verhielt sich der Zusatz der n-Milchsäure in Mengen von 0,1 bis 1,0. Der schlechter gedeihende Stamm I war durch keinen Zusatz zum Wachstum zu bringen, der besser gedeihende II zeigte bei einer Konzentration von 0,5 ccm spärliches Wachstum, sonst bei keiner der verwendeten Konzentrationen. — Anders war der Einfluß der Zusätze bei Verwendung von Aszitesagar: Auf diesem zeigten beide Stämme gutes Wachstum; dieses wurde durch den Zusatz von n-Zitronensäure in der Menge von 0,4 ccm in beiden Fällen wesentlich begünstigt, was sich durch ein außerordentlich üppiges Wachstum schon nach 24 Std. bemerkbar machte, während geringere Mengen eine Abnahme der Wirkung zeigten, bei größeren Mengen eine völlige Wachstumshemmung eintrat. Auch hier war die Milchsäure von viel geringerer Wirkung; weder die wachstumsbeschleunigende noch die wachstumshemmende Wirkung trat hier deutlich zutage, so daß der Zusatz der Milchsäure in den verwendeten Konzentrationen geradezu bedeutungslos erschien.

Was ergibt nun ein Vergleich unserer Versuche mit jenen von Lorentz? Der genannte Autor verwendet Aszitesagar und setzt zu 10 ccm seines Nährbodens verschiedene Mengen von 1proz. Milchsäure zu. Das beste Wachstum erzielt er bei Zusätzen zwischen 0,2 und 0,5 ccm. Da eine n-Milchsäure ca. 9proz. ist und bei den oben erwähnten Versuchen 0,2 bis 1 ccm auf 100 ccm der Nährlösung zugesetzt worden waren, habe ich etwa mit der gleichen Konzentration

gearbeitet wie Lorentz. Das von ihm für Milchsäure gefundene Optimum stimmt auffallenderweise genau mit dem von mir für eine äquivalente Menge Zitronensäure überein. Warum in unseren Versuchen die Milchsäure viel weniger wirksam war als bei Lorentz, läßt sich nicht ohne weiteres feststellen. Es ist nicht ausgeschlossen, daß nicht alle Präparate gleichwertig sind; übrigens erwies sich auch bei meinen Versuchen die Konzentration von 0,5 ccm n-Milchsäure in einem Falle (Stamm II, Serumagar) als wirksam. Es spricht also alles dafür, daß die Milchsäure eine ähnliche, wenn nicht die gleiche Wirkung hat wie die Zitronensäure, daß also wahrscheinlich die H-Ionenkonzentration hier ausschlaggebend ist. Leider hatte ich keine Gelegenheit, diese zu bestimmen. Ob die Ueberlegenheit der Zitronensäure gegenüber der Milchsäure auf irgendwelchen chemischen Eigenschaften (Bindung der Kalksalze, größere Haltbarkeit des Präparates) beruht, läßt sich nicht ohne weiteres feststellen, scheint aber nicht von der Hand zu weisen zu sein.

Erwähnt sei noch, daß auch die Züchtung frischer Gonokokkenstämme auf dem Zitronensäurenährboden (Pferdeserum und Aszitesflüssigkeit) leicht gelang.

Zusammenfassend sei wiederholt, daß jene Gonokokkenstämme, welche auf alkalischem Aszitesagar schlecht, auf Pferdeserumagar nicht gedeihen, durch Zusatz von organischen Säuren, besonders Zitronensäure (0,4 ccm n-Zitronensäure zu 100 ccm des Nährbodens, welche Konzentration genau eingehalten werden muß), zu üppigem Wachstum angeregt werden können.

Literatur.

1) Finger, Ghon u. Schlagenhaufer, Arch. f. Derm. u. Syph. Bd. 18. 1894. — 2) Turró, Centralbl. f. Bakt. Bd. 16. 1894. — 3) Hammer, Dtsch. med. Wochenschr. 1895. Nr. 5. — 4) Thalmann, Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Bd. 27. S. 828; Bd. 31. S. 648. — 5) Lipschütz, Ebenda. Abt. I. Orig. Bd. 36. 1904. S. 743. — 6) Koch, J., Handb. d. path. Mikroorg. 2. Aufl. Bd. 4. 1912. S. 655 (daselbst Literatur). — 7) Lorentz, Münch. med. Wochenschr. 1922. S. 1695. — 8) Ghon u. Schlagenhaufer, Wien. klin. Wochenschr. 1893. S. 619.

Nachdruck verboten.

Weitere Untersuchungen zur Bakterizidiefestigkeit des Rotzbazillus.

[Aus dem Bakteriologischen Laboratorium der Nippon med. Hochschule zu Mukden.]

Von Prof. **Hidezo Toyoda** und **Kunitake Tsuru.**

Ueber die Beziehung des bakterizidiefesten Rotzbazillus zur Rotzimmunität haben wir in einer früheren Arbeit (1) mitgeteilt, daß bei rotzkranken Tieren, die mit einer kleinen Menge von Drüsenaufschwemmung eines rotzkranken Meerschweinchens reinfiziert waren.

sich an den Reinfektionsstellen Ulzerationen bilden, wie bei der ersten Impfung, nicht aber bei rotzkranken Tieren, die mit Kulturbazillen reinfiziert wurden. Daraus konnten wir schließen, daß die im tierischen Organismus gewachsenen Rotzbazillen bakterizidiefest sind. Zu ganz ähnlichen Resultaten kamen in bezug auf Tuberkulose Toyoda (2) und Yang.

Mit der Serumfestigkeit des Typhusbazillus haben sich bereits viele Autoren [Courmont (3), Rode, Weeny, Sacquépée, Rehns u. Bancel, Kirstein, Beil (4) u. Rubritius, Walker (5) u. Ainley, Müller (6), Tsuda (7), Braun (8), Feiler (9), Takano (10), Rosenthal (11), Yanagisawa (12) usw.] beschäftigt. Die Serumfestigkeit wird danach allgemein folgendermaßen aufgefaßt: Schwer agglutinable Typhusbazillen werden oft unter den frisch aus dem menschlichen Körper gezüchteten Bazillen gefunden. Solche serumfeste Bazillen werden auch dadurch gewonnen, daß man leicht agglutinable Typhusbazillen in die Bauchhöhle eines Tieres einspritzt oder in Bouillon mit frischem Normalserum oder spezifischem Immunserum fortzüchtet; doch zeigen sie nach ein- oder mehrfachem Ueberimpfen auf gewöhnlichen Nährboden wieder eine normale Agglutinabilität.

Hohn (13) konnte nachweisen, daß die Agglutinabilität des Typhusbazillus sowohl von dem Zusatz verschiedener Zuckerarten zum Nährboden als auch von der Veränderung der Herstellungsmethode des Nährbodens in weitem Maße abhängig ist.

Der Rezidivstamm der Recurrensspirochäte verliert nach über 18-maligen Rattenpassagen oder nach einer einmaligen Zeckenpassage (Untersuchung über 6 Wochen nach den Impfungen) seine serumfeste Eigenschaft [Toyoda (14)].

Um festzustellen, ob der Rotzbazillus seine einmal gewonnene bakterizidiefeste Eigenschaft nach Ueberimpfen auf künstlichen Nährboden oder nach Tierpassagen leicht verliert oder nicht, haben wir folgende Untersuchungen ausgeführt.

I. Beziehung der Ueberimpfung auf künstlichen Nährboden zur Bakterizidiefestigkeit.

Mehreren Meerschweinchen von ungefähr 300 g Körpergewicht wurde $^1/_{500}$ mg Rotzbazillen subkutan in die Bauchgegend eingespritzt. Nach 2 Wochen wurden die Tiere in zwei Gruppen geteilt. Die eine wurde mit Gewebsaufschwemmung eines rotzkranken Meerschweinchens subkutan in die Bauchgegend auf der der ersten Impfung entgegengesetzten Seite reinfiziert. Die Gewebsaufschwemmung wurde auf folgende Weise gewonnen: Einem mit Rotzbazillen geimpften Meerschweinchen wurde eine geschwollene Inguinaldrüse 18 Tage nach der Impfung exstirpiert und in einem Mörser unter Zusatz einer kleinen Menge physiologischer Kochsalzlösung fein zerrieben. In der Flüssigkeit befanden sich durchschnittlich ca. 7—8 Rotzbazillen in einem Gesichtsfelde, und aus derselben entwickelten sich zahlreiche Kolonien in dichten Haufen, als eine Oese der Flüssigkeit auf einem Nährboden ausgestrichen wurde. Zur Impfung eines Tieres benutzten wir 0,2 ccm von der Flüssigkeit. Die Bakterienzahl in dieser Menge entspricht ungefähr $^1/_{300}$—$^1/_{400}$ mg Kulturbazillen, was durch mikroskopische Untersuchung und Kultivierung festgestellt wurde.

Indem die Bakterizidiefestigkeit der Rotzbazillen in der Gewebsaufschwemmung einerseits in obiger Weise nachgewiesen wurde, wurden die Rotzbazillen anderseits gleichzeitig aus der Gewebsaufschwemmung

auf einen Eiernährboden übergeimpft und wieder von Nährboden zu Nährboden fortgezüchtet. Die andere Gruppe der rotzkranken Tiere wurde mit je $^1/_{250}$ mg dieser Reinkulturen reinfiziert, um zu prüfen, ob und durch wievielmalige Fortzüchtungen die Rotzbazillen ihre bakterizidiefeste Eigenschaft verlieren. Bei der ersten Kultur dauerte es 48 Std. bis zur Entwicklung der Kolonien, und von der zweiten Kultur ab konnte man die Bazillen nach je 24 Std. fortzüchten. Deshalb wurde die Reinfizierung bei den Tieren, die mit der ersten Kultur geimpft wurden, 16 Tage, bei den Tieren, die mit der zweiten Kultur geimpft wurden, 17 Tage, und bei den Tieren, die mit der dritten Kultur geimpft wurden, 18 Tage nach der Impfung vorgenommen. Demnach entsprachen die 18 Tage der Zeit, die bei einem Tier, dem die Inguinaldrüse exstirpiert wurde, zwischen Impfung und Operation verlaufen war. Der Befund bei der Erstinfektion war bei allen Tieren so ziemlich derselbe: an der Impfstelle entstand ein Infiltrat, das nach 7—8 Tagen aufbrach. Die Ulzeration wurde bald mit einer Kruste bedeckt, aber sie heilte nicht leicht. Die regionären Lymphdrüsen

Versuchstier		Impfmaterial	Resultat
Rotzkranke Tiere	Nr. 1	Mit Gewebsaufschwemmung infiziert	Erbsengroße Infiltration am 7. Tage, am 11. mit einer Kruste bedeckt und sojabohnengroße Drüse
	„ 2	Desgl.	Erbsengroße Infiltration am 9. Tage, am 11. ein Geschwür
Gesunde Tiere	„ 3	„	Daumenspitzengroße Infiltration am 5. Tage und haferkorngroße Drüse
	„ 4	„	Erbsengroße Infiltration am 5. Tage, am 10. ein Geschwür und eine bohnengroße Drüse
Rotzkranke Tiere	„ 5	Mit der 1. Kultur infiziert	Keine Veränderung nach 2 Wochen
	„ 6	Desgl.	Desgl.
Gesunde Tiere	„ 7	„	Erbsengroße Infiltration am 8. Tage, am 10. ein Geschwür und eine bohnengroße Drüse
	„ 8	„	Befund nach 8. und 10. Tage wie oben, am 14. Hodenanschwellung
Rotzkranke Tiere	„ 9	Mit der 2. Kultur infiziert	Keine Veränderung nach 2 Wochen
	„ 10	Desgl.	Desgl.
Gesunde Tiere	„ 11	„	Fingerkopfgroße Infiltration am 7. Tage, am 8. aufgebrochen und eine haferkorngroße Drüse
	„ 12	„	Fingerkopfgroße Infiltration am 6. Tage, am 8. aufgebrochen und eine fingerspitzengroße Drüse
Rotzkranke Tiere	„ 13	Mit der 3. Kultur infiziert	Keine Veränderung nach 2 Wochen
	„ 14	Desgl.	Desgl.
Gesunde Tiere	„ 15	„	Bohnengroße Infiltration am 6. Tage, am 10. aufgebrochen und eine haferkorngroße Drüse
	„ 16	„	Fingerspitzengroße Infiltration am 6. Tage, am 7. aufgebrochen, am 9. eine haferkorngroße Drüse

waren vergrößert und gingen nach einiger Zeit in Vereiterung über. Der Befund der Reinfizierung bei den einzelnen Tieren ist in der vorstehenden Tabelle zusammengestellt.

Daraus ist ersichtlich, daß der Rotzbazillus, der experimentell im Tierkörper bakterizidiefest gemacht wurde, durch die nur einmalige Ueberimpfung auf künstlichen Nährboden seine neu gewonnene Eigenschaft leicht verliert. Aber wir haben auch folgende Erfahrung gemacht: Der Bazillus, der 20- oder 30mal von Tier zu Tier kontinuierlich fortgeimpft wurde, büßt seine bakterizidiefeste Eigenschaft nur wenig durch dreimalige Fortzüchtung auf künstlichen Nährboden ein. Das heißt: die Eigenschaft, die sich besonders stark ausgebildet hat, verliert sich ziemlich schwer.

II. Beziehung der Tierpassage zur Bakterizidiefestigkeit.

Wir haben versucht festzustellen, ob die Bakterizidiefestigkeit sich durch die Tierpassage verliert, wie bei der Ueberimpfung auf künstlichen Nährboden. Die Versuche wurden folgendermaßen vorgenommen: Ein Meerschweinchen wurde mit Kulturbazillen subkutan in die Bauchgegend eingespritzt. Nach 2 Wochen wurde eine geschwollene Inguinaldrüse exstirpiert, und daraus wurde eine Gewebsaufschwemmung in der schon beschriebenen Weise gewonnen. Einerseits wurden 0,2 ccm der Aufschwemmung einem rotzkranken Tiere 2 Wochen nach der Impfung eingespritzt, um die Bakterizidiefestigkeit der in der Aufschwemmung vorhandenen Bakterien nachzuweisen. Anderseits wurde, um zu prüfen, ob die Eigenschaft sich durch Tierpassagen verliert oder nicht, die Gewebsaufschwemmung einem normalen Tier subkutan eingespritzt und nach 5 Tagen die Bazillen aus einer geschwollenen Inguinaldrüse dieses Tieres auf ein neues Tier weitergeimpft. So wurden die Rotzbazillen durch 5 Tierpassagen weitergezüchtet. Gewebsaufschwemmungen wurden je mit den Drüsen der Tiere, die der 1., 2., 3., 4., 6., 9., 12., 14., 16., 19., 20., 24. und 25. Tierpassage entsprachen, gemacht und rotzkranken Tieren eingespritzt, um nachzuweisen, ob die Rotzbazillen in den Aufschwemmungen ihre Bakterizidiefestigkeit verlieren oder nicht. Wir konnten dabei aber weder eine Verminderung noch ein Verschwinden dieser Eigenschaft nachweisen. Wir haben auch einen Versuch ausgeführt, bei dem die Bazillen wöchentlich von Tier zu Tier überimpft wurden. Dabei kamen wir bis zu 27 Tierpassagen. Alle Bazillen, welche 1-, 2-, 3-, 7-, 10-, 13-, 15-, 20-, 26- und 27mal die Tiere passiert hatten, wurden in der obigen Weise auf ihre bakterizidiefeste Eigenschaft untersucht. Aber wir konnten dabei ebensowenig ein Verschwinden dieser nachweisen. Darauf haben wir nochmals einen Versuch ausgeführt, bei welchem jeden 2. Tag überimpft wurde, indem wir von der Vermutung ausgingen, der Aufenthalt von 5 oder 7 Tagen im Tierkörper könne vielleicht für die Bakterien zu lange gewesen sein. Der Versuch wurde folgendermaßen vorgenommen: Der Rotzbazillus, der schon jeden 5. Tag 15mal die Tiere durchpassiert hatte, wurde einem neuen Tier subkutan eingespritzt, die Impfstelle wurde nach 2 Tagen entfernt und aus ihr eine Gewegsaufschwemmung gemacht. Diese wurde wieder einem neuen Tier eingespritzt. In der Weise passierte der Bazillus 25mal die Tiere, also im ganzen 37mal. Dann wurde er auf Bakterizidiefestigkeit unter-

sucht. Aber auch dieses Mal konnten wir weder eine Verminderung noch ein Verschwinden dieser nachweisen.

In der folgenden Tabelle wurden nur die hauptsächlichsten Versuche kurz zusammengestellt.

III. Antigene Wirkung des bakterizidiefesten Rotzbazillus.

Das Prinzip der Serumfestigkeit des Typhusbazillus wird von vielen Autoren so aufgefaßt, daß es sich um ein Zurücktreten der Rezeptoren des Bazillus handelt. Wenn man aber mit dem serumfesten Stamm Tiere immunisiert, erhält man ein gegen serumempfindliche Typhusbazillen wirkendes Serum. Nach der angeführten Hypothese ist diese Tatsache indes schwer verständlich. Friedberger und Moreschi (15) meinen nun, daß die die Antikörper bindenden Rezeptoren nicht mit den die Antikörper bildenden identisch sind und der serumfeste Stamm deshalb ein solcher ist, der nur die Antikörper bildenden Rezeptoren hat. Dagegen nimmt Schlemmer (16) an, daß auch ein verhältnismäßig serumfester Stamm immer noch einige rezeptorentragende Individuen besitzt, die zur Antikörperbildung vollkommen ausreichen. Toyoda (17) hat mitgeteilt, daß es sich bei der Serumfestigkeit des Typhusbazillus nicht um eine Veränderung seiner Rezeptorenkonstruktion handelt, sondern um eine vermehrte physikalische Resistenz, auf die von Agglutininen oder Bakteriolysinen nicht leicht eingewirkt werden kann.

Nun wurde folgende Untersuchung ausgeführt, um zu erfahren, ob der bakterizidiefeste Rotzbazillus Antikörper gegen Reinkulturbazillen bilden könne, wenn man mit ihm Tiere immunisiert.

10 ziemlich große Meerschweinchen wurden in zwei Gruppen geteilt. Der einen Gruppe wurden Reinkulturbazillen subkutan in die Bauchgegend eingespritzt, und der anderen eine Lymphdrüsenaufschwemmung eines Meerschweinchens, bei dem 2 Wochen seit der Impfung mit einer Reinkultur vergangen waren. Beim Versuch wurde je $^1/_{50}$ mg Kulturbazillen zur Infizierung eines Meerschweinchens benutzt, weil deren Virulenz infolge der auf künstlichen Nährböden erfolgten Fortpflanzung bedeutend abgeschwächt war. Die Herstellung und Impfung mit der Gewebsaufschwemmung wurde nach der schon erwähnten Methode ausgeführt. Am 3. oder 4. Tage entstanden sojabohnengroße Infiltrationen an den Impfstellen der Tiere beider Gruppen, vom 5. bis 11. brachen sie auf, und nachher bedeckten sie sich mit Krusten. Das heißt, der Verlauf der Krankheit zeigte bei allen Tieren den gleichen Grad der Infektion. 14 Tage nach der Impfung wurde den Tieren Blut entzogen.

Der Agglutinationstiter der Sera, die von den Tieren der ersten Gruppe gewonnen wurden, wurde mit den Sera von den Tieren der zweiten Gruppe verglichen. Die Bazillenaufschwemmung für die Agglutination wurde in der Weise hergestellt, daß eine Oese einer 20stünd. Eidotteragarkultur in 5 ccm einer physiologischen Kochsalzlösung aufgeschwemmt wurde. Die ganze Menge der Probeflüssigkeit zur Agglutination in einem Röhrchen war 2 ccm. Die Proben wurden bei 37° C 3 Std., dann 20 Std. bei Zimmertemperatur gehalten. Die Resultate sind in der folgenden Tabelle zusammengestellt.

Versuch der Tiere	Art der Tiere	Tiernummer	Infizierung mit	Befunde der Impfstelle und der Inguinaldrüsen derselben Seite
Erste Gewebsaufschwemmung	rotzkrankes Tier	1	der 1. Gewebsaufschwemmung	Bohnengroße Infiltration am 4. Tag, am 7. aufgebrochen, am 14. zur größeren Hälfte geheilt
	gesundes Tier	3	desgl.	Am 4. Tag wie oben, am 5. aufgebrochen, am 14. mit einer Kruste bedeckt
An jedem 5. Tage Ueberimpfung	rotzkrankes Tier	5	dem Bazillus nach einer Tierpassage	Bohnengroße Infiltration am 5. Tag, am 10. mit einer Kruste bedeckt
	gesundes Tier	7	desgl.	Bohnengroße Infiltration am 4. Tag, am 5. aufgebrochen, am 14. mit einer Kruste bedeckt
	rotzkrankes Tier	14	dem Bazillus nach 3 Tierpassagen	Bohnengroße Infiltration am 5. Tag, am 9. aufgebrochen, am 14. mit einer Kruste bedeckt
	gesundes Tier	15	desgl.	Erbsengroße Infiltration am 3. Tag, am 6. aufgebrochen, am 14. mit einer Kruste bedeckt
	rotzkrankes Tier	22	dem Bazillus nach 6 Tierpassagen	Haferkorngroße Infiltration am 5. Tag, am 11. aufgebrochen, am 14. im Begriff zu heilen
	gesundes Tier	23	desgl.	Bohnengroße Infiltration am 3. Tag, am 5. aufgebrochen, am 6. †
	rotzkrankes Tier	71	dem Bazillus nach 25 Tierpassagen	Fingerspitzengroße Infiltration am 4. Tag, am 8. aufgebrochen, am 14. ein fingerspitzengroßes Geschwür
	gesundes Tier	73	desgl.	Taubeneigroße Infiltration am 4. Tag, am 11. †
An jedem 7. Tage Ueberimpfung	rotzkrankes Tier	81	der 1. Gewebsaufschwemmung	Bohnengroße Infiltration am 4. Tag, am 7. aufgebrochen, am 8. mit einer Kruste bedeckt, eine haferkorngroße Drüse
	gesundes Tier	84	desgl.	Fingerspitzengroße Infiltration am 4. Tag, am 7. aufgebrochen und eine bohnengroße Drüse
	rotzkrankes Tier	105	dem Bazillus nach 10 Tierpassagen	Befund am 4. Tag wie Nr. 2, am 5. aufgebrochen, am 7. †
	gesundes Tier	106	desgl.	Bohnengroße Infiltration am 3. Tag, am 5. fingerspitzengroß geworden und eine bohnengroße Drüse
	rotzkrankes Tier	147	dem Bazillus nach 27 Tierpassagen	Fingerspitzengroße Infiltration am 6. Tag, am 9. aufgebrochen, am 10. eine haferkorngroße Drüse
	gesundes Tier	149	desgl.	Fingerspitzengroße Infiltration am 5. Tag, am 8. aufgebrochen, am 10. eine sojabohnengroße Drüse
An jedem 2. Tage Ueberimpfung	rotzkrankes Tier	178	dem Bazillus nach 22 Tierpassagen	Sojabohnengroße Infiltration am 7. Tag, am 12. aufgebrochen
	gesundes Tier	179	desgl.	Sojabohnengroße Infiltration am 2. Tag, am 3. aufgebrochen, am 7. eine fingerspitzengroße Drüse, am 8. †

Serumverdünnung		50	100	200	400	800	1600	Kontrolle
Sera der mit nicht bakterizidiefesten Bazillen infizierten Tiere	Nr. 1	+++	+++	++	+	±	—	—
	„ 2	+++	+++	+	+	—	—	—
	„ 3	+++	+++	+	+	—	—	—
	„ 4	+++	+++	+++	++	—	—	—
	„ 5	+++	+++	+++	++	±	—	—
Sera der mit bakterizidiefesten Bazillen infizierten Tiere	„ 6	+++	++	+	+	—	—	—
	„ 7	+++	++	++	±	—	—	—
	„ 8	+++	+++	++	+	±	—	—
	„ 9	+	—	—	—	—	—	—
	„ 10	Das Tier †						

Daraus geht hervor, daß die Sera der mit den Kulturbazillen infizierten Tiere mit den Sera der mit den bakterizidiefesten Rotzbazillen infizierten Tiere ebenfalls die Kulturbakterien agglutinieren können. Die Sera zeigten auch mit einem Serum des Tieres, das mit erhitzten Rotzkulturbazillen immunisiert war, fast gleiche Agglutinationswirkung gegen die Kulturbazillen. Diese Tatsachen stimmen mit einer Arbeit über den serumfesten Typhusbazillus von Toyoda überein, und daraus ist auch ersichtlich, daß die Rezeptorenkonstruktion des bakterizidiefesten Rotzbazillus keine Veränderung zeigt.

Zusammenfassung.

1) Die Bakterizidiefestigkeit des Rotzbazillus verliert sich leicht durch Ueberimpfung auf künstlichen Nährboden. — 2) Die Bakterizidiefestigkeit verschwindet nicht nach Tierpassagen. — 3) Der bakterizidiefeste Rotzbazillus bildet im Tierkörper Agglutinine gegen die Kulturbazillen ebenso wie der nicht bakterizidiefeste.

Literatur.

1) Toyoda u. Tzuru, Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 89. 1923. — 2) Toyoda u. Yang, Ebenda. — 3) Fornet, zitiert nach Handbuch v. Kolle-Wassermann. 2. Aufl. Bd. 3. S. 851. — 4) Bail u. Rubritius, Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 43. 1907. — 5) Walker u. Ainley, Ebenda. Abt. I. Ref. Bd. 32. 1902. S. 115. — 6) Müller, Münch. med. Wochenschr. 1903. — 7) Tzuda, Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 48. 1909. — 8) Braun u. Feiler, Zeitschr. f. Immun.-Forsch. Orig. Bd. 21. 1914. — 9) Feiler, Ebenda. Bd. 24. 1916. — 10) Takano, Saikingakuzasshi 1914. — 11) Rosenthal, Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Ref. Bd. 70. 1920. S. 185. — 12) Yanagisawa, Saikingakuzasshi 1921. — 13) Hohn, Münch. med. Wochenschr. 1922. — 14) Toyoda, Saikingakuzasshi 1916. — 15) Friedberger u. Moreschi, Berl. klin. Wochenschrift 1905. — 16) Schlemmer, Zeitschr. f. Immun.-Forsch. Orig. Bd. 9. 1911. — 17) Toyoda, Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 88. 1922. — 18) Fornet, Immunität bei Typhus. (Handbuch v. Kolle-Wassermann. 2. Aufl. Bd. 3.) — 19) Paltauf, Agglutination. (Ebenda. Bd. 2.)

Nachdruck verboten.

Beitrag zur zytologischen Diagnose der Lyssa.

[Aus der protozoologischen Abteilung des Instituts für Infektionskrankheiten Elias Metschnikow in Moskau (Direktor: Prof. Dr. S. Korschun. Abteilungsleiter: Dr. H. Epstein.)]

Von Dr. **H. Epstein.**

Bekanntlich ist die Methylblau-Eosin-Methode von Mann eine der gebräuchlichsten bei der mikroskopischen Untersuchung der Gehirne von tollwutverdächtigen Tieren.

Diese Methode gibt vorzügliche, kontrastreiche Bilder, und ich bediente mich ihrer fast ausschließlich seit einer Reihe von Jahren. Doch besitzt sie einige Nachteile, die mich veranlaßt haben, nach anderen Färbungsmethoden zu suchen. Als solche Nachteile mögen folgende angeführt werden:

1) Das Methylblau überfärbt öfters den zytoplasmatischen Hintergrund und verschleiert die Negrischen Körperchen. In solchen Fällen ist ihr Auffinden manchmal recht schwierig, besonders wenn sie klein oder spärlich sind.

2) Nach Mann färben sich mit Eosin nicht nur die Negrischen Körperchen, sondern auch die Nukleolen in den Kernen der Ganglienzellen. Und so kam es manchmal vor, daß ein durch das Mikrotommesser ins Zellprotoplasma verschleppter Nukleus ein Negri-Körperchen vortäuschte. Es kostete dann viel Zeit und Mühe, die wirkliche Natur des betreffenden Gebildes richtig zu erkennen. In solchen Ausnahmefällen kann die Diagnose noch durch den Umstand erschwert werden, daß die Nucleoli der Ganglienzellen des Ammonshorns (Hund) nicht selten eine alveoläre Struktur aufweisen, wodurch gelegentlich eine äußere Aehnlichkeit mit den Negrischen Körperchen hervorgerufen werden kann.

3) Die schlechte Konservierung des meistens nicht frischen Materials, welches zur Tollwutuntersuchung gelangt, ist öfters Ursache der Minderwertigkeit der Präparate in morphologischer wie tinktorieller Hinsicht.

In letztgenannten Fällen ist die Diagnose besonders erschwert[1]).

Nach einer Reihe von Versuchen entschloß ich mich für die Methode von Kull (1914). Letztere stellt eine Modifizierung der Altmannschen Methode (S. Fuchsin-Pikrinsäuremethode) dar und besteht aus aufeinanderfolgender Behandlung des Schnittes mit S. Fuchsin, Thionin und Aurantia.

Diese Methode gibt sehr schöne Bilder und besitzt den Vorteil, daß sie den protoplasmatischen Teilen orangegelbe Farbe verleiht, sie aber nicht überfärbt und ganz durchsichtig läßt. Aber auch bei dieser

1) Viele Vorzüge im Vergleich mit der ursprünglichen Mannschen Methode besitzt ihre Modifizierung nach Dobell. Letzterer differenziert das Präparat nicht in alkoholischer KOH-Lösung, sondern in 0,1proz. Lösung von Orange G in 70° Alkohol. Aehnliche Resultate erhielt ich auch mit Aurantia-Lösung. Die Negrischen Körperchen erscheinen rosa auf gelbem Hintergrund, jedoch färben sich auch die Nukleolen rosa.

Methode werden die Nucleoli ebenso rot gefärbt wie die Negrischen Körperchen.

Es gelang, diesen Nachteil durch die Vorbehandlung der Schnitte mit 5proz. Tanninlösung zu vermeiden. Es wurde dabei folgende Differenzierung erzielt: Die protoplasmatischen Elemente — hellgrünlichgelb, die Zellkerne — blau, die Erythrozyten — zinnoberrot, die Nucleoli — grau bis schwarz-violett bei Tageslicht und blauviolett bei künstlichem Licht. Die Negrischen Körperchen erscheinen dabei rosarot bis purpurrot.

Die alveoläre Struktur der Negrischen Körperchen wie auch deren Einschlüsse kommen sehr scharf zum Vorschein. Letztere färben sich dunkelrot.

Der gesamte Prozeß verläuft also folgendermaßen:

A. Fixieren mit Alk. methylicus oder Aceton. — B. Paraffineinbettung. — C. Färbung der Schnitte: 1) 5 Proz. Ac. tannicum — 15 Min. Zimmertemperatur; 2) 1—5 Proz. Fuchsin S. (in 3 Proz. Anilinwasser) — Färben auf schwacher Flamme, bis Dämpfe erscheinen. Abspülen; 3) 0,3—0,5 Proz. Thionin (in Aq. dest.) 10 bis 15 Sek., bis die Schnitte dunkelblauviolett werden. Abspülen; 4) 10 Proz. Aurantia (in 70° Alk.) 5—10 Sek., bis die Schnitte Tabakfarbe annehmen; 5) Alk. abs. 3—5 Sek., bis die Schnitte grünlich erscheinen; 6) Xylol oder Toluol. Hier werden die Schnitte vollständig durchsichtig und erscheinen makroskopisch zart orange.

Anmerkungen.

ad A. Formalinfixierung empfiehlt sich weniger als Methylalkohol oder Aceton, weil sich nach ihr die Nukleolen nach Kull trotz der Tanninvorbehandlung manchmal rötlich färben.

In der letzten Zeit fixiere ich oft das Tollwutmaterial 6—12 Std. lang in einem Gemisch von Alk. met. 100,0, Tannin 5 Proz., Ac. ac. glac. 1 Proz. Dann kommen die Stückchen für 6—12 Std. in Alk. abs. usw.

Dieses Gemisch liefert vorzügliche histologische Bilder und macht die Tanninbehandlung der Schnitte überflüssig.

ad B, 1. Das 5proz. Ac. tannicum hat sich am besten bewährt. Karbol-Tanninlösung bietet keine Vorteile. Ebensowenig Erwärmung der Flüssigkeiten während der Beizung.

ad B, 2. Nach den Vorschriften von Altmann und Kull wird das Fuchsin S. in 20proz. Lösung angewandt. Für unsere Zwecke genügt schon eine 1—5proz. Lösung.

ad B, 4. Für die Färbung eignet sich ausschließlich das rotbraune kristallinische Pulver von Aurantia (Grübler u. a.).

Das unter demselben Namen „Aurantia" — ohne irgendwelche besondere Bezeichnung — und von denselben Firmen in den Handel gebrachte hellgelbe amorphe Pulver eignet sich für unsere Zwecke absolut nicht.

Die Präparate werden manchmal durch die Ausfällung von breiten, flachen, sägeartig gezackten, gelbbraunen Kristallen in ihrer Schönheit etwas beeinträchtigt.

Die beschriebene Methode „Tannin-Kull" erleichtert die mikroskopische Diagnose der Tollwut in hohem Maße, indem sie das Auffinden der kleinsten und spärlichsten Negri-Körperchen ohne Mühe und Zweifel gestattet.

Ich wandte diese Methode auch für den Nachweis von Guarnerischen Körperchen an und erhielt auch hierbei vorzügliche mikroskopische Bilder sowohl an Ausstrichen als auch an Schnitten.

Literatur.

Kull, Anat. Anz. Bd. 45. 1914. S. 155. — Dobell, The amoebae living in man. London 1919. p. 7. — Epstein, Arch. Soc. Russe de Protistol. T. 2. 1923. p. 300. Moskau.

Nachdruck verboten.

Untersuchungen zur Aetiologie und Biologie der Tumoren.

XXVI. Mitteilung [1]).

Beziehungen der Bakterien zu den Tumoren des Menschen, der Tiere und der Pflanzen. Zusammenfassung.

Von Dr. **E. Saul** †, Berlin.

Mit 22 Abbildungen im Text.

Als Motto möchte ich das berühmte Wort des Pathologen Cohnheim wählen: „Man mag die Objekte mit der peinlichsten Sorgfalt makroskopisch und nicht minder mikroskopisch untersuchen, es gibt kein anderes Untersuchungsmittel als die Aetiologie.“ Demgegenüber ist hervorzuheben, daß Virchow in der „Zellularpathologie“ sowie in seinem Werk „Die krankhaften Geschwülste“ ätiologische Betrachtungen vermeidet. Wir müssen den Standpunkt Cohnheims als Fortschritt begrüßen, denn auf der Aetiologie ruht die Prophylaxe und die Therapie.

Billroth hat in seiner Publikation „Ueber die Einwirkung lebender Pflanzen- und Tierzellen aufeinander“ (Wien 1890) hervorgehoben, daß auf dem Gebiete der Tumorforschung keine Veröffentlichung existiert, welche die drei Reiche der belebten Natur — Mensch, Tier und Pflanze — bezüglich der Aetiologie und Histologie der Tumoren zusammenfassend betrachtet. Da der von Billroth gerügte Mangel auch heute noch existiert, so habe ich den Versuch unternommen, die Tumoren der Menschen, der Tiere und der Pflanzen vom Standpunkt der vergleichenden Pathologie zu schildern, und zwar in der vorliegenden Veröffentlichung Tumoren, für deren Aetiologie Bakterien in Betracht kommen. Die zu beschreibenden Befunde sind von mir in vieljährigen Forschungen gewonnen worden.

I. Beziehungen der Bakterien zu den Tumoren der Pflanzen und ihre Histologie.

Fig. 1. Das Gesichtsfeld zeigt eine große Zahl pflanzlicher Tumoren, die auf Mohrrübenscheiben experimentell hervorgerufen wurden. Vergrößerung 1:1.

Die Mohrrübenscheiben waren nach dem Vorgange des amerikanischen Pflanzenpathologen Smith[2]) mit Agarkulturen des Bacillus tumefaciens geimpft worden. Obgleich die Impfung von ein und derselben Kultur und zu derselben Zeit geschah, haben die Tumoren während ihrer 3wöchigen Entwicklung völlig verschiedene Dimensionen

1) Vgl. Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 90. 1923.
2) Smith, Crown-Gall of Plants etc. Washington 1911.

erreicht. Beurteilt man den Charakter eines Tumors nach der Schnelligkeit seines Wachstums, so zeigen diese Tumoren, trotz gleicher Ursache und trotz gleicher Entwicklungsbedingungen, eine Skala verschiedenartiger Malignität. Die Inkubation beträgt 1—2 Wochen.

Fig. 1.

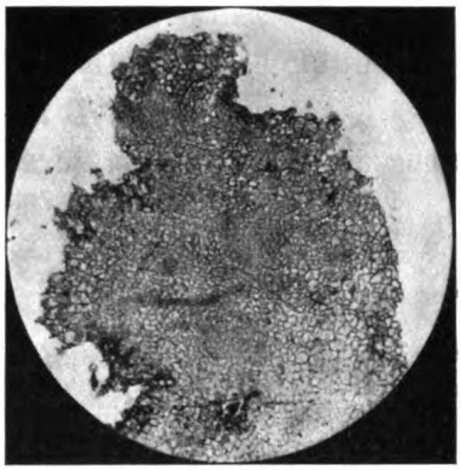


Fig. 2.

Fig. 2. Schnittpräparat eines pflanzlichen Tumors, der mit einer Agarkultur des Bacillus tumefaciens hervorgerufen wurde. Vergrößerung 1:30. Man erkennt, daß der Tumor sich breitbasig über dem Muttergewebe erhebt. Die Tumorzellen erscheinen, entsprechend ihrer schnellen Entwicklung, im allgemeinen kleiner als die Zellen des Muttergewebes; im übrigen weist nichts darauf hin, daß sie durch einen parasitären Reiz verursacht wurden.

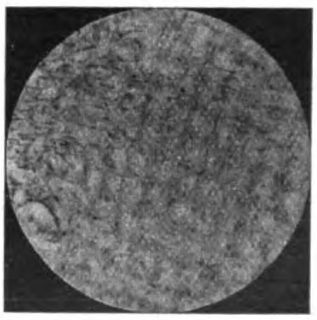


Fig. 3.

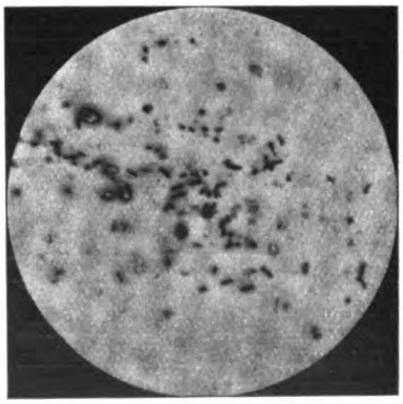


Fig. 4.

Fig. 3. Dasselbe Präparat in starker Vergrößerung (1:250).

Die Morphologie pflanzlicher Tumoren verhält sich analog derjenigen menschlicher oder tierischer Tumoren. Zum Beispiel sind die durch Milben veranlaßten pflanzlichen Tumoren papillär oder zystisch, die Kohlkrebstumoren alveolär gebaut. Fig. 3 lehrt, daß die Struktur

der pflanzlichen Tumoren, die der Bacillus tumefaciens hervorruft, an den Bau der Sarkome oder an denjenigen der zellenreichen Fibrome erinnert.

Fig. 4. Ausstrichpräparat eines pflanzlichen Tumors, der durch den Bacillus tumefaciens hervorgerufen wurde. Färbung mit Karbolfuchsin. Vergrößerung 1:1000.

Der Bacillus tumefaciens ist pleomorph; er erscheint in Ausstrichpräparaten des Tumors bald in Kugelformen, bald als dickes Stäbchen; da diese Formen des Bacillus tumefaciens auch in alten Kulturen desselben gefunden werden, so sind sie als Degenerationsformen zu deuten.

Fig. 5. Schnittpräparat eines pflanzlichen Tumors, der durch den Bacillus tumefaciens hervorgerufen wurde. Gram-Färbung. Vergrößerung 1:1000.

Fig. 5.

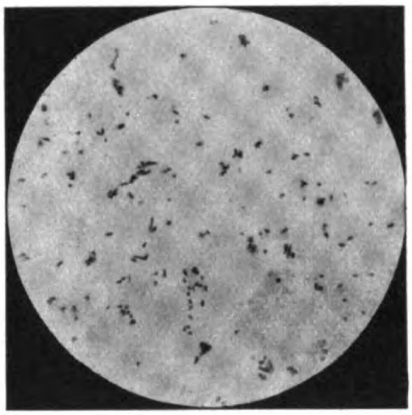


Fig. 6.

Das Präparat zeigt die in der Botanik als Zelltüpfel bezeichneten Teile der Zellwand; an diesen Teilen ist die Kontinuität der Zellwand unterbrochen, so daß hier benachbarte Zellen kommunizieren. Auf dem Wege der Zelltüpfel kann der Bacillus tumefaciens von Zelle zu Zelle wandern.

Fig. 6. Ausstrichpräparat einer 24stünd. Agarkultur des Bacillus tumefaciens. Gram-Färbung. Vergrößerung 1:1000.

Der Bacillus tumefaciens wächst auf allen Nährböden bei Zimmertemperatur. Vermöge polarer Geißeln besitzt er Eigenbewegung; er ist grampositiv.

II. Beziehungen der Bakterien zu den Tumoren der Tiere und ihre Histologie.

Fig. 7. Im Gesichtsfeld erscheint in natürlicher Größe der Kopf eines Huhnes, das an Epithelioma contagiosum erkrankt war. Dieser Tumor entwickelt sich hauptsächlich an den unbefiederten Teilen des Kopfes: am Kamm, an den Kehllappen, den Augenlidern und den

Ohren. — 1907 entdeckte Carnwath[1]), daß das Epithelioma contagiosum des Geflügels mit Produkten der Geflügeldiphtherie, die er in die Haut des Kammes einrieb, experimentell hervorgerufen werden kann, ebenso erzeugte er Geflügeldiphtherie mit Material des Epithelioma contagiosum. Uhlenhuth[2]) und Manteufel[2]) bestätigten die Resultate Carnwaths. Seitdem werden in der Veterinärpathologie das Epithelioma contagiosum des Geflügels und die Geflügeldiphtherie als ätiologisch einheitliche Krankheiten betrachtet.

Fig. 8. Schnittpräparat eines Epithelioma contagiosum (Huhn). Gieson-Färbung. Vergrößerung 1:50.

Das Gesichtsfeld zeigt im Uebersichtsbild einen Teil des genannten Tumors und angrenzende normale Teile der Haut. Im Bereich des Eptihelioma contagiosum bilden die gewucherten Epithelien des Stra-

Fig. 7.

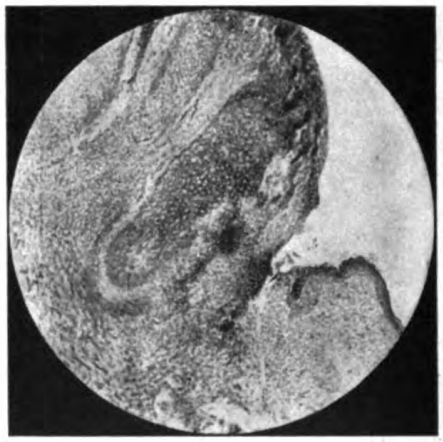


Fig. 8.

tum germinativum lange Zapfen. Da das Epithelioma contagiosum nicht infiltrierend wächst, so werden die an ihn angrenzenden Teile der Pars superficialis der Cutis durch die vordringenden Tumorepithelien lediglich komprimiert.

Fig. 9. Schnittpräparat eines Epithelioma contagiosum. Gieson-Färbung. Vergrößerung 1:50.

Man erkennt, daß die epitheliale Wucherung des Epithelioma contagiosum nicht nur in der Richtung auf die Cutis, sondern auch nach der Oberfläche der Epidermis hin erfolgte. Während an der Oberfläche des Tumors die gewucherten Epithelien beständig der Verhornung und Loslösung unterliegen, bleibt der Zellenbestand in den tiefen Teilen des Tumors erhalten.

Fig. 10. Dasselbe Präparat in starker Vergrößerung. 1:250.

In den Epithelien des Epithelioma contagiosum sind vakuoläre Einschlüsse sichtbar; sie werden, je nach ihren Fundorten, als Vogel-

1) Arb. aus d. Kaiserl. Gesundheitsamt. Bd. 27. 1907. S. 388.
2) Arb. aus d. Kaiserl. Gesundheitsamt. Bd. 27. 1907. S. 388.

augen, Pockenkörperchen, Molluscumkörperchen, Guarnierische oder Negrische Körperchen bezeichnet. Gegenwärtig bekunden alle Autoren, daß diese vakuolären Einschlüsse als Degenerationsprodukte des Zellprotoplasmas, bzw. des Zellkernes zu deuten sind.

Das Epithelioma contagiosum des Geflügels besitzt, wie bereits erwähnt wurde, dieselbe Aetiologie wie die Geflügeldiphtherie. Der Erreger der letzteren ist der Bacillus diphtheriae columbarum, den Loeffler[1]) 1884 entdeckt hat. — Marx[2]) und Sticker[2]) haben gezeigt, daß das Epithelioma contagiosum des Geflügels durch das Berkefeld-Filtrat, das man von dem Brei dieses Tumors gewinnt, experimentell hervorgerufen werden kann. Es muß daher der Bazillus des Epithelioma contagiosum in dem Sediment des Berkefeld-Filtrates kulturell nachweisbar sein. Dies ist in der Tat der Fall, wie ich konstatieren konnte. Man muß zum Zwecke des Nachweises das gesamte Filtratsediment des Tumorbreies mit dem Nährboden, Bouillon, überschichten.

Fig. 9.

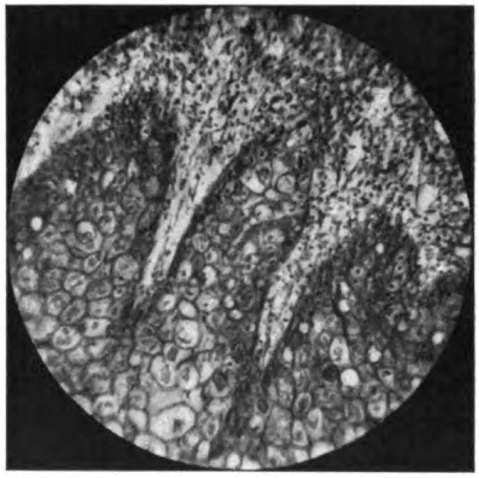


Fig. 10.

Verwendet man ein und dieselben Berkefeld-Filter zu wiederholten Malen, so verlieren die Filterporen ihre Durchlässigkeit für korpuskuläre Elemente; man findet dann das Filtratsediment frei von Mikroorganismen. Bezüglich der Syphilisspirochäten hat bereits Nakano[3]) bewiesen, daß sie das Berkefeld-Filter durchdringen. In Schnittpräparaten des Epithelioma contagiosum habe ich den Bazillus desselben niemals gefunden; er kann innerhalb des Tumorgewebes von histologischen Zellderivaten nicht unterschieden werden; sein Nachweis gelingt nur in Ausstrichpräparaten, die man vom Tumorgewebe des Epithelioma contagiosum gewinnt.

Fig. 11. Ausstrichpräparat eines Epithelioma contagiosum (Huhn). Färbung mit Karbolfuchsin. Vergrößerung 1:1000.

Das Gesichtsfeld zeigt neben histologischen Elementen den Bazillus des genannten Tumors; er ist mit dem Bazillus der Geflügeldiphtherie identisch, wie bereits erwähnt wurde.

1) Arb. aus d. Kaiserl. Gesundheitsamt. Bd. 2. 1884. S. 421.
2) Dtsch. med. Wochenschr. 1902. S. 893; ebenda 1903. S. 79.
3) Ebenda. 1912. S. 1333.

Fig. 12. Ausstrichpräparat einer 24stünd. Agarkultur der Geflügeldiphtherie, bzw. des Epithelioma contagiosum. Färbung mit Karbolfuchsin. Vergrößerung 1:1000.

Dieser Bazillus wächst auf allen Nährböden bei Brüt- und Zimmertemperatur; er besitzt keine Eigenbewegung, hat die Tendenz, Haufen zu bilden, sich parallel zu lagern und gelegentlich Keulenformen zu produzieren; er ist grampositiv.

III. Beziehungen der Bakterien zu den Tumoren des Menschen — und ihre Histologie.

Fig. 13. Schnittpräparat eines Condyloma acuminatum. Gieson-Färbung. Vergrößerung 1:30.

Das Uebersichtsbild lehrt, daß dieser Tumor aus Wucherungen des Epidermisepithels und des Papillarkörpers der Cutis resultiert. Das Condyloma acuminatum ist daher als Fibroepitheliom zu bezeichnen.

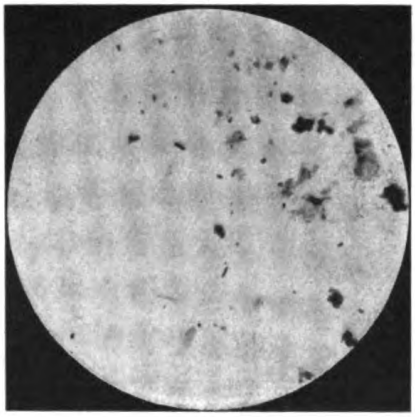


Fig. 11.

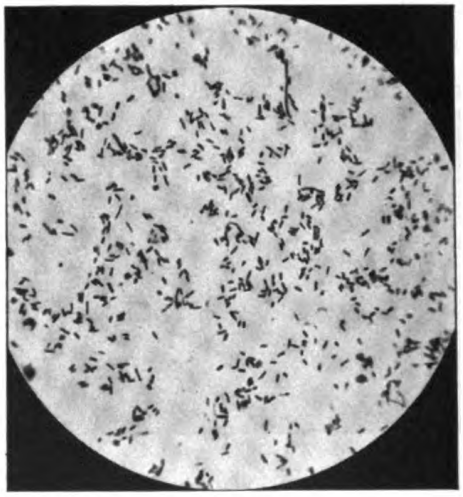


Fig. 12.

Während bei der Verruca vulgaris die proliferierten Epithelien in allen Schichten der Epidermis verhornen, entspricht das Stratum corneum im Bereiche des Condyloma acuminatum normalen Verhältnissen. Dagegen zeigt das Stratum germinativum des Condyloma acuminatum eine so enorme Entwicklung, daß er den wesentlichen Teil dieses Tumors darstellt. Die Papillen des Condyloma acuminatum erscheinen in ihrer Höhe und Verzweigung außerordentlich entwickelt, so daß sie an einzelnen Stellen das Stratum corneum der Epidermis fast erreichen. Die Oberflächenfurchung des Condyloma acuminatum beruht auf dem mehr oder weniger tiefen Herabsteigen des Stratum corneum in die Zentren der Epithelleisten. — Ebenso wie das Karzinom und das Sarkom, besitzt das Condyloma acuminatum gewisse Prädilektionsstellen; es wird am häufigsten im Sulcus coronarius des Mannes und im Vestibulum vaginae des Weibes gefunden. Ebenso wie das Karzinom und das Sarkom hat das Condyloma acuminatum die Fähigkeit, rapid zu wachsen und zu rezidivieren; indessen zeigt es kein infiltrierendes

Wachstum und keine Tendenz, zu metastasieren. Eine spontane Rückbildung, wie sie bei der Verruca vulgaris, als Folge fortschreitender Verhornung regelmäßig beobachtet wird, bietet das Condyloma acuminatum niemals dar. — Es ist historisch interessant, daß Virchow[1]) in der Zellularpathologie berichtet, Dieffenbach habe in einem Falle von Condyloma acuminatum die Amputation des Penis vorgenommen, weil er meinte, es handle sich um Karzinom; er war durch das rapide und rezidivierende Wachstum des Condyloma acuminatum getäuscht worden. Die histologischen Kriterien des Karzinoms waren den damaligen Klinikern nicht bekannt.

Fig. 14. Dasselbe Präparat in starker Vergrößerung. 1:200.

Im Bereiche des Condyloma acuminatum sind die Lymphspalten des Stratum germinativum stark erweitert, das Bindegewebe der Cutispapillen ödematös gelockert, die Kapillaren der Cutispapillen erreichen den Umfang kutaner Venen.

Fig. 15. Ausstrichpräparat eines Condyloma acuminatum. Färbung mit Karbolfuchsin. Vergrößerung 1:1000.

Fig. 13.

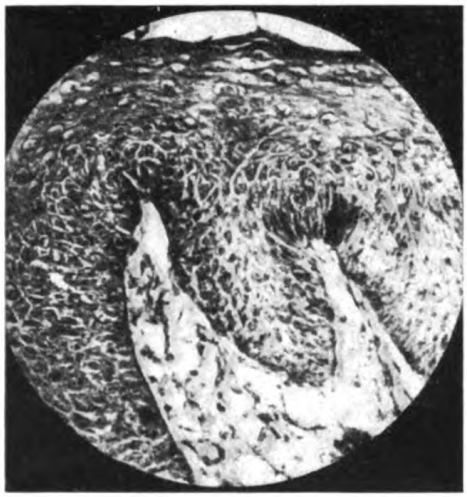


Fig. 14.

Neben histologischen Elementen zeigt das Gesichtsfeld Kokken, die kurze Ketten bilden. Diesen Befund habe ich in Ausstrichpräparaten des Condyloma acuminatum regelmäßig erhoben. In Schnittpräparaten können diese Streptokokken von histologischen Zellderivaten nicht unterschieden werden. Da Streptokokken auch als Erreger der Verruca vulgaris in Betracht kommen, wie ich an der Hand der folgenden Abbildungen darlegen möchte, so dürften das Condyloma acuminatum und die Verruca vulgaris eine gemeinsame Aetiologie besitzen. Diese Auffassung wird durch klinische und experimentelle Erfah-

1) Virchow, Die Zellularpathologie. 4. Aufl. 1871. S. 553.

rungen bestätigt. Zum Beispiel fand Thibièrge[1]) bei 25 Proz. seiner Patienten, die am spitzen Kondyloma litten, gleichzeitig Verruca vulgaris. Waelsch[2]) und Fantl[2]) impften Teile eines spitzen Kondyloms auf die Beugeseite ihrer Vorderarme und auf das Genitale einer Virgo intacta. Die Inkubation betrug $2^1/_2$—8 Monate. Die experimentell hervorgerufenen Tumoren der Vorderarme erwisen sich als Verrucae vulgares, während auf dem Genitale der Virgo intacta ein typisches Condyloma acuminatum entstand. — Da Streptokokken für die Aetiologie des Condyloma acuminatum in Betracht zu ziehen sind, wie im übrigen bereits Billroth[3]) bekundet hat, so wird erklärlich, daß wir dasselbe bei entzündlichen Erkrankungen der Genitalien, wie Balanitis, Urethritis, Vulvitis, Vaginitis, auftreten sehen. Indessen haben diese Entzündungskrankheiten keineswegs regelmäßig das Condyloma acuminatum im Gefolge; für seine Genese besitzt die individuelle Disposition entscheidende Bedeutung.

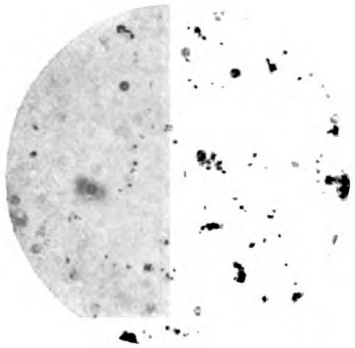


Fig. 15.

Fig. 16.

Fig. 16. Schnittpräparat einer Verruca vulgaris. Gieson-Färbung. Vergrößerung 1:40.

Man erkennt im Uebersichtsbild, daß die Verruca vulgaris durch eine Epithelmasse dargestellt wird, die fast völlig verhornt ist. Der Papillarkörper der Cutis hat an dem hyperplastischen Prozeß, welcher der Verruca vulgaris zugrunde liegt, keinen Anteil; sie stellt eine epitheliale Neubildung im strengsten Sinne des Wortes dar, weil ihr epitheliales Gewebe keine Stützsubstanzen besitzt und weder Blutgefäße noch Lymphgefäße enthält. Unter dem Druck der verhornten Epithelien, welche die Verruca vulgaris zusammensetzen, erscheinen die Cutispapillen breitgedrückt (pseudohypertrophisch); ihre Zahl ist erheblich verringert, weil die weniger widerstandsfähigen Papillen zur Fläche ausgeglichen werden. Solange die epidermidale Decke des Papillarkörpers der Cutis ihre Kontinuität bewahrt, besitzt die Verruca vulgaris eine regelmäßige, nicht zerklüftete Oberfläche.

1) Annal. de Dermat. 1906.
2) Arch. f. Dermat. Bd. 124. 1918.
3) Billroth, Ueber die Einwirkungen lebender Pflanzen- und Tierzellen aufeinander. Wien 1890. S. 33.

Fig. 17. Dasselbe Präparat in starker Vergrößerung. 1:200.

Die Epithelien der Verruca vulgaris dringen niemals tief in die interpapillären Schichten der Cutis; sie bilden daher zwischen den Cutispapillen einen kurzen, spitzen Keil. Hat die Verruca vulgaris den Zustand der Reife überschritten, so ruht die Zellproliferation des Stratum germinativum, während die Verhornung der Epithelien fortschreitet. Infolgedessen besitzt die Verruca vulgaris schließlich nur ein Stratum corneum.

Seit den positiven Uebertragungsversuchen von Lanz[1]) und Jadassohn[2]) ist die parasitäre Aetiologie der Verruca vulgaris allgemein anerkannt. Lubarsch hebt ausdrücklich hervor, daß die Uebertragungsversuche von Lanz und Jadassohn infolge der beobachteten Inkubationszeiten — sie betrugen $1^1/_2$—8 Monate — als Transplantation mit Infektion gedeutet werden müssen. Den Erreger der Verruca vulgaris habe ich in Ausstrichpräparaten nachzuweisen unternommen, die von dem Tumorgewebe gewonnen wurden.

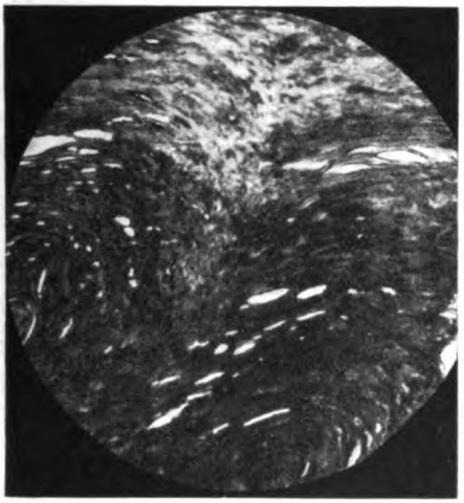


Fig. 17.

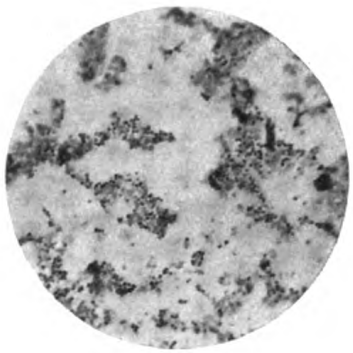


Fig. 18.

Fig. 18. Ausstrichpräparat einer Verruca vulgaris. Färbung mit Karbolfuchsin. Vergrößerung 1:1000.

Neben histologischen Elementen erkennt man Kokken, die kurze Ketten bilden; ich konnte sie in der Verruca vulgaris regelmäßig nachweisen, gelegentlich in großen Mengen und in Reinkultur, wie Fig. 18 lehrt. In Schnittpräparaten sind sie von histologischen Zellderivaten nicht zu unterscheiden. Die Streptokokken der Verruca vulgaris durchdringen das Berkefeld-Filter, sie werden daher in dem Sediment des Berkefeld-Filtrates gefunden, das man von dem Tumorbrei der Verruca vulgaris gewinnt. In diesem Zusammenhange ist hervorzuheben, daß Ciuffo[3]) und Serra[4]) mit dem Berkefeld-Filtrat der Verruca vulgaris experimentelle Warzen hervorgerufen haben.

1) Dtsch. med. Wochenschr. 1899. S. 313.
2) Verhandl. d. V. Dtsch. Dermatol.-Kongr.
3) Giorn. ital. med. ven. A. 1. 1907.
4) Ebenda. 1908.

Fig. 19. Schnittpräparat eines Molluscum contagiosum. Gieson-Färbung. Vergrößerung 1:50.

Wie Virchow[1]) nachgewiesen hat, nimmt das Molluscum contagiosum seinen Ursprung von den Haarfollikeln; es resultiert aus Epithelproliferation und Epithelretention. Die Epithellappen, die das Molluscum contagiosum zusammensetzen, sind mit ihrem schmalen Teile gegen die Delle gerichtet, die der zentrale Teil des Molluscum contagiosum bei makroskopischer Betrachtung darbietet.

Fig. 20. Dasselbe Präparat in starker Vergrößerung. 1:400.

Die Epithelien des Molluscum contagiosum liegen in den Maschenräumen eines Stroma. In dem Maße, wie sie gegen die Oberfläche der Epidermis vordringen, verfallen sie dem Prozeß der Verhornung. Die vakuolären Zelleinschlüsse der Molluscumepithelien, die sogenannten „Molluscumkörperchen", sind als Degenerationsprodukte des Protoplasmas zu bezeichnen, wie bereits erwähnt wurde.

Fig. 21. Ausstrichpräparat eines Molluscum contagiosum. Färbung mit Karbolfuchsin. Vergrößerung 1:1000.

Fig. 19.

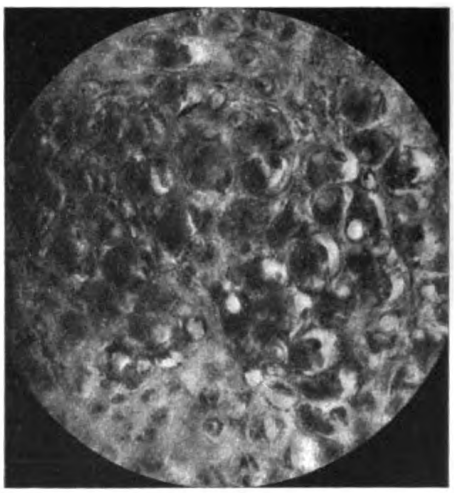


Fig. 20.

Neben histologischen Elementen zeigt das Gesichtsfeld Streptokokken. Da Streptokokken auch als Erreger des Condyloma acuminatum und der Verruca vulgaris in Betracht kommen, wie bereits erörtert wurde, so dürften das Molluscum contagiosum, das Condyloma acuminatum und die Verruca vulgaris eine gemeinsame Aetiologie besitzen. Diese Auffassung wird durch die erwähnten Uebertragungsversuche von Waelsch[2]) und Fantl[2]) sowie durch die klinischen Erfahrungen und die experimentellen Resultate von A. Neißer[3]) und Jadassohn[4]) gestützt. Wie diese Autoren hervorheben, wird bei der experimentellen Uebertragung des Molluscum contagiosum, der Verruca vulgaris und des Condyloma acuminatum eine lange Inkuba-

1) Virch. Arch. Bd. 33. 1865. S. 144.
2) l. c.
3) Vierteljschr. f. Derm. Bd. 15. 1888. S. 575 ff.
4) Verhandl. d. V. Dtsch. Dermatol.-Kongr.

tionszeit beobachtet ($1^1/_2$—8 Monate), die genannten Tumoren lokalisieren sich an Kratzstrichen, auch können sie plötzlich generalisierte Ausbreitung zeigen. Im übrigen ist zu bemerken, daß die Streptokokken des Molluscum contagiosum, der Verruca vulgaris und des Condyloma acuminatum auf keinem Nährboden wachsen.

Fig. 22. Ausstrichpräparat eines Molluscum contagiosum. Nach Lipschütz[1]).

Die in der Abbildung erscheinenden Streptokokken werden von Lipschütz als eine Sonderklasse von Mikroorganismen betrachtet, weil sie auf Nährböden nicht kultiviert werden können; er bezeichnet sie als Strongyloplasmen στρογγύλος = rund). Demgegenüber ist her-

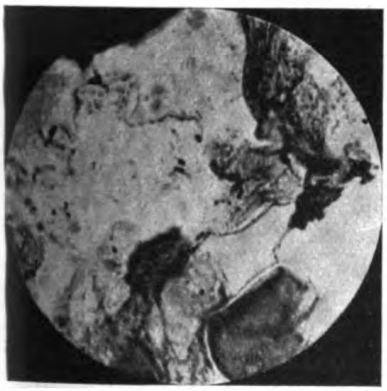


Fig. 21.

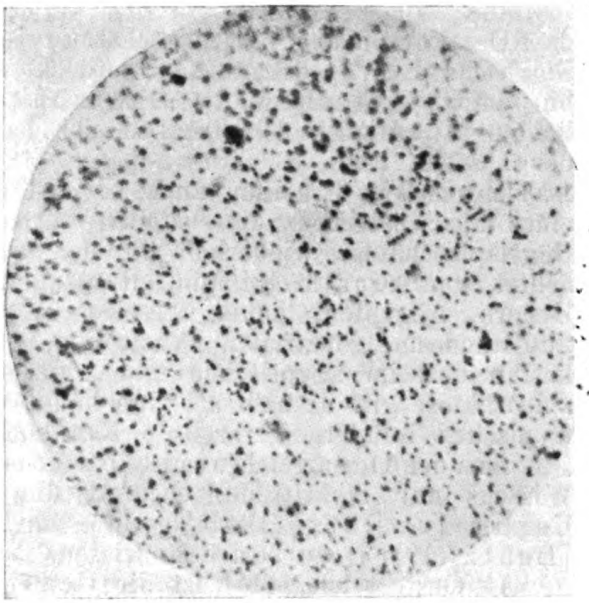


Fig. 22.

vorzuheben, daß wir nach dem Vorgange von Billroth den Namen „Streptococcus" allen Mikroorganismen beilegen, die Ketten bilden, unabhängig davon, daß wir sie auf Nährböden züchten. Im übrigen betont Billroth[2]), wie einseitig unsere Auffassungen bezüglich der ätiologischen Bedeutung der Streptokokken sind, indem wir sie lediglich als Erreger entzündlicher und gangränöser Prozesse betrachten; er war der erste, der Streptokokken für die Aetiologie des Condyloma acuminatum in Anspruch nahm.

1) Kolle-Wassermann, Handb. d. pathog. Mikroorganism. 2. Aufl. Bd. 8. 1913.

2) Billroth, Ueber d. Einwirkungen lebender Pflanzen- und Tierzellen aufeinander. Wien 1890. S. 33.

Nachdruck verboten.

Geflügelspirochätose in Oesterreich.

[Aus der Station für Tierseuchendiagnostik an der staatlichen Tierimpfstoffgewinnungsanstalt in Mödling bei Wien.]

Von Direktor Dr. **F. Gerlach.**

Mit 2 Tafeln.

Das Vorkommen von Spirochäten beim Geflügel ist erst 1890 durch Sacharoff in Transkaukasien entdeckt worden. Seine und die daraufhin von Gabritschewsky, Cantacuzène und Ducloux veröffentlichten Mitteilungen beschränken sich jedoch nur auf die Spirochätose der Gänse. Erst 13 Jahre später (1903) haben Marchoux und Salimbeni in Brasilien auch bei Hühnern Spirochäten als Ursache eines Massensterbens festzustellen vermocht. Seither wurde die Geflügelspirochätose wiederholt in den verschiedensten Ländern beobachtet, und zwar in Rußland, Rumänien, Bulgarien, Serbien, Ungarn, Zypern, Aegypten, Tunis, Algerien, Kamerun, Süd-Nigeria, Senegal, Süd-Rhodesia, Südafrika, Australien, Westindien, Nordindien, Turkestan und im ägyptischen und französischen Sudan. Die Geflügelspirochätose gilt deshalb als eine hauptsächlich in tropischen und subtropischen Ländern verbreitete Krankheit.

Aus den Oesterreich unmittelbar benachbarten Staaten liegen meines Wissens nur 2 Mitteilungen vor, die über Geflügelspirochätose in Ungarn [v. Ratz (1914)] und von Hühnerspirillose in Serbien [Lentz (1918)] zu berichten wissen.

In Oesterreich selbst ist die Geflügelspirochätose bis zum Herbst des Jahres 1923, zu welcher Zeit ich diese Krankheit in 4 Geflügelbeständen erstmals feststellen konnte, noch nicht beobachtet worden.

Am 11. 9. 1923 übersandte Herr Tierarzt Dr. Beitl in Mödling an die Station für Tierseuchendiagnostik ein in der vorhergehenden Nacht verendetes Huhn mit dem Ersuchen um Feststellung der Todesursache. Der Vorbericht besagte, daß in dem Bestande W., aus dem das Tier stammte, 5 Hühner innerhalb weniger Tage umgestanden waren, weshalb eine Infektion mit Geflügelcholera vermutet wurde. Das zur Untersuchung eingesendete Huhn hatte sich seit 2 Tagen krank gezeigt.

Sektionsbefund: Der von unzähligen Vogelmilben befallene Kadaver bereits eröffnet. Hochgradige Anämie und starke Abmagerung. Die Leber vergrößert, ungewöhnlich hell, nahezu ockergelb gefärbt. An der Leberoberfläche und in dem fettig degenerierten Leberparenchym verstreut liegende lichte, punktförmige, nekrotische Herde. Der bläulich-schimmernde Darm zeigt, besonders in seinem Anfangsteil, die Gefäße der Serosa stark injiziert und Schwellung und Rötung der Schleimhaut. Der Darminhalt flüssig, von grau-gelber Farbe, sehr übelriechend. Die Milz beträchtlich vergrößert, fast nußgroß, Pulpa brüchig, von hellgrau-rötlicher Farbe. Auffallende Schwellung und ockergelbe Färbung der Nieren. Der Herbzeutel verdickt. Herzbeutelflüssigkeit in größerer Menge vorhanden.

In mikroskopischen Präparaten aus dem Herzblut, die nach dem

von mir zu diagnostischen Zwecken angegebenen Verfahren[1]) gefärbt worden waren, konnten Geflügelcholerabakterien nicht nachgewiesen werden. Hingegen fanden sich zwischen den zelligen Elementen des Blutes sehr zahlreiche rot-violett gefärbte Spirochäten von ansehnlicher Länge, die eine verschiedene Anzahl ziemlich flacher Windungen aufzuweisen hatten. In einer Reihe von Präparaten, von denen ein Teil nach Giemsa gefärbt, ein Teil nach dem Burrischen Tuscheverfahren angefertigt worden war, konnten die Spirochäten gleichfalls unschwer nachgewiesen werden. Zu bemerken ist, daß dieser Nachweis der Spirochäten 13 Std. nach dem Tode des Huhnes, bei bereits mehrere Stunden hindurch eröffnetem Kadaver gelungen ist.

Während die Untersuchung dieses Huhnes noch im Gange war, wurde die Erkrankung zweier weiterer Hühner dieses Bestandes gemeldet, die dann trotz meines Ersuchens um Ueberlassung zu Studienzwecken geschlachtet und gegessen wurden. Nur das Herz von einem dieser beiden Hühner konnte noch 9 Std. nach der Schlachtung einer Untersuchung zugeführt werden. Auch bei diesem Tiere waren in den aus den noch vorhandenen Resten von Herzblut angefertigten Ausstrichpräparaten zahlreiche Spirochäten vorhanden.

Bei einer am nächsten Tage vorgenommenen Besichtigung des nahegelegenen Hühnerbestandes W. wurden weitere 2 Hühner mit deutlichen Krankheitserscheinungen angetroffen. Sie zeigten anhaltende Schlafsucht, gebückte Körperhaltung und gesträubtes Gefieder. Auf in die Händeklatschen aus unmittelbarer Nähe keine Reaktion. Kamm und Kehllappen blaß rötlich-gelb gefärbt. Zungen- und Maulschleimhaut bleich. Kropf leer. Häufige Entleerung grauer, schmierig-weicher Kotmassen.

Nach Angabe des Besitzers hatten auch die bereits verendeten bzw. geschlachteten 7 Hühner im Verlaufe der Erkrankung mit den eben geschilderten Symptomen stets übereinstimmende, nur graduell und hinsichtlich ihrer Dauer verschiedene Krankheitserscheinungen erkennen lassen.

In bezug auf das Zustandekommen der Infektion mit Spirochäten in diesem Hühnerbestande konnte erhoben werden, daß der Besitzer das 5. von den verendeten Hühnern, das als 1. an die Station für Tierseuchendiagnostik eingesendet worden war und das mit Spirochätose behaftet erkannt wurde, am 31. 8. 1923 von einer Geflügelhändlerin aus Ungarn angekauft hatte. Die Infektion hat demnach in diesem Bestande innerhalb 11 Tagen eine Erkrankung oder den Tod der in Rede stehenden Hühner zur Folge gehabt.

Die beiden bei den im Geflügelhofe gepflogenen Erhebungen krank angetroffenen Tiere wurden zu Versuchszwecken in das Institut überstellt, während 6 von den 7 noch übrigen, anscheinend vollkommen gesunden Hühnern des Bestandes einer Behandlung mit Atoxyl unterzogen wurden, und zwar erhielt jedes Tier 3mal nacheinander, am 12., 14. und 19. 9., je 0,05 g Atoxyl subkutan injiziert. Diese sechs Tiere sind in der Folge nicht erkrankt. Das 7. jedoch, das als Kontrolle nicht mit Atoxyl behandelt und im infizierten Bestande belassen worden war, verfiel am 15. 9. in einen schlafsüchtigen Zustand und verendete am 17. 9., wie durch mikroskopische Untersuchung des Blutes ermittelt werden konnte, an Spirochätose.

1) Einzeitige Karbolfuchsin-Methylenblaufärbung. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 91. Nr. 7/8. 1924.)

So wie sämtliche Hühner dieses Bestandes, war auch dieses Huhn von überaus zahlreichen Vogelmilben [Dermanyssus gallinae De Geer (avium Dug.)] befallen, worauf ich späterhin noch zurückkommen werde.

Eine Aufschwemmung von Herzblut des 1. spirochätosekranken, an das Institut eingesendeten Huhnes in physiol. NaCl-Lösung diente zur Vornahme von Uebertragungsversuchen. Sofort nach Feststellung der Diagnose am 11. 9. wurden 2 gesunde Hühner des Institutes und 2 Tauben mit je 1 ccm der Blutaufschwemmung intramuskulär geimpft, während davon einem Kaninchen und einem Meerschweinchen je 2 ccm subkutan, 2 weißen Mäusen je 1 ccm intraperitoneal einverleibt wurden. Am 13. 9. war in Ausstrichpräparaten von Blut, gewonnen durch Punktion der Flügelvenen bei den beiden künstlich infizierten Hühnern, eine geringe Zahl von Spirochäten festzustellen. Noch ehe 48 Std. seit der Infektion abgelaufen waren, bestanden bei diesen beiden Hühnern aber auch schon äußerlich deutliche Kennzeichen der Erkrankung: Mattigkeit, Schwäche, die sich durch Taumeln kundtat, Somnolenz. Am 14. 9., also am 3. Tage nach vollzogener künstlicher Infektion, erwies sich das aus den Flügelvenen der Hühner gewonnene Blut in mikroskopischen Präparaten förmlich überschwemmt mit auffallend langen, oft zu Zöpfen und Knäueln verflochtenen Spirochäten. Die schon am Vortage erkennbaren Krankheitssymptome waren inzwischen noch deutlicher geworden. Am 15. 9. erreichte die Schlafsucht und die Schwäche der künstlich infizierten Hühner den Höhepunkt. Die Tiere waren auch unter Anwendung von Gewalt kaum zu ermuntern. Schon bei leichtem Anstoßen fielen sie um und vermochten sich nur schwer oder überhaupt nicht mehr aufzurichten. Das eine der beiden künstlich infizierten Hühner verblieb in diesem Stadium der Erkrankung bis zum 19. 9., an welchem Tage es unter Krämpfen und Lähmungserscheinungen verendete. Vom Zeitpunkte der Infektion bis zum Tode waren somit 8 Tage verstrichen. Noch 12 Std. nach dem Tode waren die Spirochäten im Herzblut nachweisbar. Doch fanden sich hier durchweg erheblich kürzere Formen, als sie das lebende Tier auf der Höhe der Erkrankung im Blute aufzuweisen gehabt hatte. Auch in den verschiedensten Organen des toten Huhnes, in Lungen, Leber, Milz, Nieren, Ovarium, Knochenmark und Gehirn, waren mehr oder weniger zahlreiche Spirochäten vorhanden, wie durch Ausstrichpräparate unschwer ermittelt werden konnte. Auch der Kot enthielt in geringerer Anzahl kurze Formen von Spirochäten, die am besten mittels des Burrischen Tuscheverfahrens sichtbar gemacht werden konnten. Es ist mir übrigens gelungen, auch sonst bei lebenden, an Spirochätose erkrankten Hühnern auf diese Weise das Vorhandensein oft recht vieler, allerdings nur kurzer Formen von Spirochäten im Darminhalt festzustellen. Der bei dem künstlich infizierten Huhne erhobene Sektionsbefund ergab das Vorliegen einer serösen Pericarditis, einer starken Milzschwellung und einer deutlichen Schwellung und Degeneration der Leber.

Das 2. von den beiden künstlich infizierten Hühnern erholte sich zusehends, nachdem es zunächst 3 Tage hindurch die vorhin geschilderten schweren Krankheitssymptome gezeigt hatte und im peripheren Blute Spirochäten in Massen aufgefunden worden waren, so daß es am 21. 9., also am 10. Tage nach der Infektion, wieder frisch und munter und vollkommen hergestellt erschien. Bei wiederholten Unter-

suchungen des Blutes dieses Huhnes konnten Spirochäten nun nicht mehr gefunden werden. Die schon am 21. 9. vorgenommene Ueberimpfung von Blut dieses Tieres auf 2 gesunde Hühner hatte eine Erkrankung dieser Versuchstiere nicht zur Folge. Es handelte sich demnach in diesem Falle um eine Spontanheilung der Spirochätose, die schon 10 Tage nach stattgehabter Infektion zu verzeichnen war. Dieses Huhn erwies sich auch späterhin anläßlich wiederholter Infektionsversuche mit frischem, hochvirulentem Spirochätenmaterial immun gegen eine Reinfektion mit Hühnerspirochätose.

Von den übrigen versuchsweise künstlich infizierten Tieren verhielten sich das Kaninchen, das Meerschweinchen und die beiden Tauben refraktär, da an ihnen weder irgendwelche Krankheitserscheinungen wahrzunehmen, noch in ihrem Blute Spirochäten aufzufinden waren. Das Blut der beiden intraperitoneal infizierten Mäuse enthielt wohl am 2. Tage nach der Impfung eine spärliche Anzahl von Spirochäten, doch waren dieselben am 3. Tage schon wieder aus der Blutbahn verschwunden.

Bei den beiden am 12. 9. im Bestande W. unter Symptomen der Spirochätose natürlich erkrankten und lebend in das Institut überstellten Hühnern wurden am 14. 9. im Blute aus den Flügelvenen die ersten Spirochäten gesichtet, und zwar nur spärliche und kurze Individuen. In den nächsten Tagen fand im Blute dieser beiden Hühner eine ungemein starke Vermehrung der Spirochäten statt, die mit dem Fortschreiten der Zeit eine beträchtliche Längenzunahme erkennen ließen. In der Nacht vom 16. auf den 17. 9. sind diese beiden Hühner der im Geflügelhof zustande gekommenen, natürlichen Infektion erlegen. Die zum Skelett abgemagerten Kadaver waren von zahllosen Vogelmilben befallen. Kamm und Kehllappen von lichter gelbroter Farbe. Hochgradige Anämie. Seröse Pericarditis bei dem einen, serofibrinöse Pericarditis bei dem anderen Huhn. Der zarte, gelbweiße, größtenteils körnige und fädige Fibrinbelag überzog das Pericardium an einzelnen Stellen in Form feiner, häutiger Membranen. Die Leber von graugelber, heller Farbe, von lichten, punktförmigen Herden durchsetzt. Die etwa haselnußgroßen Milzen hellgraurötlich, scheckig gefärbt, von lätschiger Konsistenz. Schwellung und Degeneration der Nieren.

Am 18. 9. wurde an die Station für Tierseuchendiagnostik in Mödling der bereits eröffnete Kadaver eines Huhnes aus dem Bestande G. eingesendet zwecks Ueberprüfung der auf Leukämie lautenden Diagnose des behandelnden Tierarztes, die in Anbetracht eines übermäßig stark entwickelten Milztumors gestellt worden war, und weil schon einige Tage vorher ein anderes Huhn umgestanden war, bei dem lediglich eine Milzschwellung vorgelegen haben soll. Von dem 1. Verendungsfalle im Bestande G. waren mir das vollkommen eröffnete Herz und die Milz in stark vertrocknetem und geschrumpftem Zustande eingesendet worden. Für die Feststellung einer Leukämie war das eingesendete Material unzureichend gewesen, die Untersuchung auf Geflügelcholera hatte ein negatives Ergebnis. Spirochäten waren in diesem Falle nicht nachweisbar. Bei dem aus dem Bestande G. stammenden Hühnerkadaver wurde folgender pathologisch-anatomischer Befund erhoben: Blaßrote Farbe des Kammes. Abmagerung. Serofibrinöse Pericarditis, Hyperämie und Oedem der Lungen, die Leber vergrößert, von heller, graugelber Farbe, mit zahlreichen lichten Punkten ver-

sehen, Milz über taubeneigroß, Nieren geschwollen, hell graugelb gefärbt, sehr brüchig.

Im Herzblut waren Spirochäten reichlich anzutreffen, weniger zahlreiche, kürzere Spirochätenformen fanden sich in Ausstrichpräparaten von dem fibrinösen Belag des Pericardiums. Im Darminhalte dieses Huhnes waren in ziemlich großer Zahl zumeist kurze, stark verkrümmte, an verschiedenen Stellen Quellungen und Knickungen aufweisende Spirochäten zu finden.

Bei der am 19. 9. erfolgten Besichtigung des Hühnerbestandes G. wurden unter den vorhandenen 20 Hühnern nur 2 angetroffen, die der Spirochätose verdächtig erschienen, da sie sich matt und schlafsüchtig zeigten. Kurze Zeit vorher soll bei ihnen die Hinfälligkeit deutlicher ausgeprägt gewesen sein. Diese beiden Hühner wurden aus dem Hühnerhofe entfernt und in das Institut überstellt. Die in den nächsten Stunden aus den Flügelvenen wiederholt entnommenen Blutproben enthielten keine Spirochäten. Das Befinden der Tiere besserte sich allmählich zusehends, so daß sie sich schon im Laufe der nächsten Tage vollkommen gesund zeigten. Es dürfte sich auch hier um eine Spontanheilung infizierter Hühner gehandelt haben. Leider konnten späterhin diese beiden Hühner auf eine etwa vorhandene Immunität gegen Spirochätose nicht mehr geprüft werden, da wider alles Erwarten in diesem Hühnerbestande weitere Erkrankungsfälle an Spirochätose nicht mehr aufgetreten sind und das in der folgenden Zeit im Institute anlangende Spirochätenmaterial, wegen des Bestehens einer Mischinfektion mit Geflügelcholera, diesen wie auch allen sonst noch in größerem Umfange geplanten Versuchen vorzeitig ein unerwünschtes Ende setzte.

Wie erhoben werden konnte, ist das Auftreten der Spirochätose in den beiden vorerwähnten Hühnerbeständen W. und G., die räumlich voneinander durch eine Strecke von ca. 1 km getrennt sind, auf den Ankauf ausländischer Hühner zurückzuführen, und zwar wurden die Hühner für beide Hühnerhöfe ca. 2 bzw. 3 Wochen vor dem Auftreten der ersten Erkrankungsfälle von ein und derselben ungarischen Geflügelhändlerin erworben, die nachweislich diese Hühner vom Budapester Markt nach Oesterreich gebracht hatte. Eingehendere Nachforschungen über die für die vorangeführten Fälle von Spirochätose in Betracht kommende Infektionsquelle konnten nicht mehr angestellt werden, da die obenbezeichnete Geflügelhändlerin unauffindbar blieb, nachdem sie voreilig von unberufener Seite von den Erkrankungsfällen in den von ihr belieferten Geflügelbeständen und von meiner gründlich mißverstandenen Absicht, mit ihr persönlich in Verbindung zu treten, in Kenntnis gesetzt worden war. Ob die nach Oesterreich eingeführten, mit Spirochätose infizierten Hühner ungarischer Provenienz waren, oder ob sie aus einem der Balkanstaaten stammten, von wo aus der Budapester Geflügelmarkt zum Teil beschickt werden soll, muß demnach dahingestellt bleiben. Jedenfalls ist das Vorkommen der Geflügelspirochätose sowohl in Ungarn als auch auf dem Balkan, wie schon eingangs erwähnt wurde, in der Literatur ausgewiesen.

Einen Monat später, am 23. 10. 1923, übersandte Herr Tierarzt Dr. Stiglmayer, Assistent an der Tierärztlichen Hochschule in Wien, an die Station für Tierseuchendiagnostik in Mödling einen Hühnerkadaver behufs Ermittlung der Krankheitsursache mit der Mitteilung, daß auf dem Gute „Magdalenenhof" in B. anfangs Oktober mehrere Hühner verendeten, die vorher schwere Atemnot, Durchfall,

Verfärbung der Haut und des Kammes gezeigt hatten. Die im Laboratorium in Wien nach Sektion, mikroskopischer Untersuchung von Blutausstrichen und Kulturversuchen gestellte Diagnose lautete auf Geflügelcholera. Die daraufhin mit Geflügelcholeraserum durchgeführte Impfung des gesamten, über 200 Stück Geflügel enthaltenden Bestandes hatte nicht den gewünschten Erfolg, da schon innerhalb der nächsten 8 Tage abermals mehrere Hühner und Gänse umgestanden sind. Nach einer sofort vorgenommenen abermaligen Impfung des Geflügels gegen Geflügelcholera waren binnen 4 Tagen wieder 9 Todesfälle zu verzeichnen. Es erfolgte daher nunmehr die Einsendung eines Hühnerkadavers an die Station nach Mödling mit dem dringenden Ersuchen um Untersuchung und zweckdienliche Auskunft.

Kadaver bereits faul. Schlechter Nährzustand. Kamm und Kehllappen hochrot gefärbt. Umgebung der Kloake stark mit breiigen, grau-grünen Kotmassen verunreinigt. Der Herzbeutel enthält größere Mengen einer klaren, weingelben Flüssigkeit. Die rechte Lunge dunkelbraunrot, stark ödematös. Die Leber von dunkel-graugelber Farbe, von zahlreichen miliaren, nekrotischen Herden durchsetzt. Milz enorm vergrößert (Gewicht $13^1/_2$ g), scheckig, blaßblau und hellrötlich gefärbt.

In Ausstrichpräparaten (Giemsa-Färbung und Tuscheverfahren) aus dem Herzblut fanden sich bei der mikroskopischen Untersuchung sehr zahlreiche Spirochäten, eine geringe Zahl von bipolaren Bakterien und zahlreiche Fäulnisbakterien. Plattenkulturen, die aus Herzblut, Milz und Lunge angelegt worden waren, enthielten am nächsten Morgen neben Kolonien verschiedener Begleitbakterien überwiegend solche der hämorrhagischen Septikämie. Hühner, die am Abend des 23. 10. mit Herzblut des eingesendeten Tieres geimpft worden waren, wurden am 24. 10. in der Frühe tot in ihren Käfigen angetroffen. Wie durch die Untersuchung festgestellt werden konnte, waren sie der Infektion mit Geflügelcholera erlegen.

Die Diagnose lautete demnach in diesem Falle auf eine Mischinfektion von Geflügelspirochätose und Geflügelcholera. Deshalb wurde auch empfohlen, den bereits 2mal mit Immunserum gegen Geflügelcholera geimpften Geflügelbestand unverzüglich auch noch einer Impfung mit Atoxyl zu unterziehen.

Da bisher eine Reihe von in Aussicht genommenen Versuchen mit Geflügelspirochäten wegen Materialmangel unterbleiben mußte, eine Isolierung der Spirochäten von den Geflügelcholerabakterien in diesem Falle aber nicht im Bereiche der Möglichkeit gelegen war, wurde um Einsendung der Kadaver von eventuellen weiteren Verendungsfällen unter dem Geflügel des Magdalenenhofes in B. angesucht, in der Meinung, daß sich darunter ein oder das andere Stück Geflügel befinden könnte, das einer Spirochätose allein, ohne Hinzutreten von Geflügelcholera erlegen ist. Leider hat sich diese Erwartung nicht erfüllt, da auch die übrigen, durch gütige Vermittlung Dr. Stiglmayers eingeschickten Geflügelkadaver von der Mischinfektion befallen waren. Die Durchführung der projektierten weiteren, umfangreichen Versuche mit Geflügelspirochätose ist demnach lediglich davon abhängig, ob im Laufe der Zeit neue Ausbrüche von Geflügelspirochätose in Oesterreich erfolgen werden, bzw. ob auch künftighin Spirochätenmaterial für diese Zwecke zu erlangen sein wird.

Auch die noch nachträglich am 26. 10. vom Magdalenenhofe an der Station in Mödling eingelangten beiden Hühner und 1 Gans waren bereits im Zustande beginnender Fäulnis. Bei der Sektion dieser

3 Kadaver fanden sich übereinstimmend subepikardiale Blutungen, Lungenödem, Milztumor und akute Enteritis. In mikroskopischen Präparaten aus dem Herzblut der Hühner und der Gans waren zahlreiche Geflügelcholera- und Fäulnisbakterien anzutreffen und außerdem ziemlich viele Spirochäten, von denen die meisten Degenerations- und Zerfallserscheinungen erkennen ließen. Im Kulturversuche waren neben verschiedenerlei Verunreinigungen Kolonien von Geflügelcholerabakterien angegangen.

Die Krankheit verlief bei dem Geflügel des Magdalenenhofes in B. unter folgenden Erscheinungen: Die Hühner, von denen manche Schlafsucht erkennen ließen, drängten sich mit gesträubtem Gefieder in dunkle Ecken zusammen und verweigerten jedwede Aufnahme von Futter. Einzelne zeigten Schwellungen an den Gelenken der Beine, andere waren mit starkem Nasenausfluß behaftet oder sie hatten verschwollene Augen. Manche Hühner litten mehrere Tage hindurch an Durchfall. Es wurden auch Verendungsfälle bei solchen Hühnern beobachtet, die sich vorher nicht krank gezeigt hatten (Monoinfektion mit Geflügelcholera?). Die Gänse suchten mit Vorliebe das Freie auf und nahmen ungewöhnlich viel Wasser zu sich.

Die Dauer der Erkrankung war eine verschiedene. Die Hühner verendeten ganz unvermittelt plötzlich oder sie trugen bis zu 8 Tagen deutliche Erscheinungen einer Erkrankung zur Schau. Alte Hühner zeigten sich viel widerstandsfähiger als junge. Die Gänse verendeten nach 1—3tägiger Dauer der Erkrankung, während bei Enten der Tod ohne vorherige Krankheitserscheinungen plötzlich erfolgte.

Auch in diesem Geflügelbestande muß der erst kürzlich erfolgte Ankauf neuer Hühner als Ursache des Auftretens der Spirochätose unter dem heimischen Geflügel geltend gemacht werden. Es konnte nur in Erfahrung gebracht werden, daß die zugekauften Hühner von einem Geflügelhändler aus Ungarn bezogen worden waren.

Bald nachdem sämtliche noch vorhandenen Hühner, Gänse und Enten dieses Bestandes einer einmaligen Impfung mit je 0,04 g Atoxyl unterzogen worden waren, sind weitere Erkrankungen des Geflügels auf dem Magdalenenhofe in B., wo die beiden Krankheiten nahezu 4 Wochen hindurch Massenverluste verursacht hatten, nicht mehr vorgekommen.

Als Erreger der Spirochätose des Geflügels sind bisher verschiedene Spirochätenarten beschrieben worden. Doch dürften diese nach einer neueren Auffassung miteinander identisch sein. Ich schließe mich dieser Meinung, nach welcher ein einheitlicher Erreger für die Spirochätose in Betracht kommt, an, da ich das gleichzeitige Auftreten der Spirochätose bei Hühnern und Gänsen selbst beobachten konnte, was für die Richtigkeit dieser Annahme zu sprechen scheint, und bezeichne deshalb die in den vorangeführten Fällen aufgefundene Spirochäte, wie dies derzeit gebräuchlich ist, als Spirochaeta gallinarum s. anserina. Die Geflügelspirochäte erwies sich in den von mir untersuchten Fällen verschieden groß, jedoch immer von recht ansehnlicher Länge, die innerhalb weiter Grenzen schwankte. Die kürzesten von mir aufgefundenen Exemplare der Geflügelspirochäte haben eine Länge von 5 μ, die längsten eine solche bis zu 32 μ aufgewiesen. Die Dicke der einzelnen Individuen, die in der Mitte gewöhnlich am umfangreichsten erschienen, betrug durchschnittlich 0,25—0,5 μ. Die Anzahl der ziemlich langen und nicht allzu dicht liegenden Windungen war eine wechselnde (3—23), die Länge und Tiefe derselben ist annähernd mit 0,25 μ bemessen worden. Nicht alle bei ein und derselben

Geflügelspirochäte vorhandenen Windungen waren gleich lang und gleich tief. Die in der Mitte der einzelnen Individuen zumeist tiefsten und kürzesten Windungen der Spirale flachten gegen die beiden sich verjüngenden Enden der Spirale hin zusehends ab und erfuhren damit gleichzeitig eine bedeutende Zunahme ihrer Länge. Im Dunkelfeld und im stark abgeblendeten Hellfeld ließ die Geflügelspirochäte lebhafte, teils schlängelnde, teils durch Kontraktion und Ausdehnung in der Längsrichtung zustandekommende Eigenbewegung erkennen. Zusammenziehungen und vollständiges Geradestrecken wie auch Verkrümmungen des Fadens nach verschiedenen Richtungen vollzogen sich oft mit großer Schnelligkeit.

Für die färberische Darstellung der Spirochäten hat sich mir die Giemsa-Färbung und meine für diagnostische Zwecke angegebene Methode der einzeitigen Karbolfuchsin-Methylenblaufärbung gut bewährt. Als besonders vorteilhaft für den Nachweis der Geflügelspirochäten in Ausstrichpräparaten hat sich das Burrische Tuscheverfahren erwiesen. Eine ungleichmäßige Färbung einzelner Individuen, eine Art von Segmentierung oder Granulierung des Zelleibes Spirochaeta granulosa Balfour) war wiederholt zu erkennen. Hingegen ist es mir nicht gelungen, Geißeln der Geflügelspirochäten sichtbar zu machen.

Als Fundstätten der Geflügelspirochäten sind sämtliche Körperorgane, vor allem aber das Blut zu bezeichnen. Hier zeigten sich oft, besonders auf der Höhe der Erkrankung, massenhaft besonders lange Formen des Erregers, die in diesem Stadium der Krankheit zu zweien oder dreien, aber auch in Haufen, Klumpen, Knäueln, Rosetten oder zu dichten Zöpfen miteinander verflochten aufgetreten sind, in denen die einzelnen Individuen ihrer Zahl und Form nach nicht mehr bestimmt werden konnten. Im Entwicklungsstadium der Erkrankung, gegen das Ende derselben und auch bei Spontanheilung waren stets weniger und auffallend kürzere, in der Längsrichtung ausgestreckte Formen der Spirochäten bzw. überhaupt keine Spirochäten mehr nachweisbar. Im Blute des nach natürlicher Infektion mit Spirochäten infizierten und verendeten, von mir untersuchten Geflügels waren die Erreger jedsmal, oft in großer Zahl, zumeist einzeln liegend aufzufinden, trotzdem manche Kadaver schon mehrere Stunden vor der Untersuchung eröffnet, andere wieder erst 2—3 Tage nach dem Tode, sogar schon im faulen Zustande, in das Institut überbracht worden waren. Bei dem von mir innerhalb 9 Std. bis 3 Tage nach dem Verenden untersuchten Geflügel konnte in jedem Falle der Nachweis der Spirochäten mit Hilfe der mikroskopischen Blutuntersuchung erbracht werden.

Um über das Auftreten und die Verteilung der Geflügelspirochäten in den verschiedenen Körperorganen bei dem mir zur Verfügung stehenden Materiale Aufklärung zu erhalten, wurden Teile der verschiedensten Organe, soweit sie nicht sichtlich durch kadaveröse Prozesse verändert waren, nach dem Silberimprägnationsverfahren für die Darstellung der Spirochaeta pallida von Levaditi behandelt, in Paraffin eingebettet, in dünne Schnittserien zerlegt und histologisch untersucht. Nach dieser Methode konnten die intensiv schwarzbraun gefärbten Spirochäten in den Geweben sämtlicher Körperorgane des kranken Geflügels ausnahmslos vorzüglich sichtbar gemacht werden. Vor allem waren sie stets am reichlichsten in den mit Blut gefüllten Arterien und Venen anzutreffen. Aber auch zwischen den zelligen Ele-

menten der unterschiedlichsten Gewebsarten aller Organe waren sie teils in der Einzahl, teils zu Konvoluten vereinigt vorhanden.

Kulturversuche wurden mehrere Male mit dem bei den künstlichen Uebertragungsversuchen gewonnenen frischen, von Begleitbakterien freien Materiale durchgeführt. Angewendet wurden verschiedene in der Literatur für die Kultur von Spirochäten als gut geeignet bezeichnete Verfahren der aëroben und anaëroben Züchtung, gleichzeitig aber auch die gebräuchlichen Bakteriennährböden mit und ohne Serumzusatz. Obwohl es mir immer gelungen ist, nach 3—5tägiger Bebrütung der Kulturröhrchen bei 37·0 C in Ausstrichen aus dem jeweils verwendeten Nährmedium die Spirochäten nachzuweisen, kann ich doch die von mir angestellten Züchtungsversuche nicht als gelungen bezeichnen, da die Zahl der Geflügelspirochäten in den aus den Kulturen angefertigten mikroskopischen Präparaten eine so geringe war, daß daran gedacht werden muß, ob nicht lediglich die mit dem Ausgangsmaterial in den Nährböden übertragenen Erreger wieder ausgestrichen worden sind. Am ehesten noch wurde der Anschein einer in bescheidenen Grenzen sich haltenden Vermehrung der Spirochäten in jenen Kulturröhrchen erweckt, die mit sterilem, inaktiviertem Kaninchenserum unter Zusatz eines Stückchens steriler Kaninchenniere beschickt worden waren. Doch halte ich mich auf Grund meiner viel zu wenig umfangreichen Versuche in dieser Richtung nicht für berechtigt, ein Urteil über die Kultivierbarkeit der Geflügelspirochäte zu fällen. Bedauerlicherweise war für spätere Kulturversuche geeignetes Material nicht mehr verfügbar (Mischinfektion mit Geflügelcholera), so daß die komplizierteren Züchtungsverfahren, die von Levaditi, Noguchi, Hata u. a. mit Erfolg angewendet worden sind, von mir bisher nicht in Betracht gezogen werden konnten.

Gelegentlich der Prüfung der Frage, ob die Geflügelspirochäte einen Entwicklungszyklus in den Erythrozyten durchmacht, habe ich sämtliche Präparate eingehend auf das Vorhandensein von endoglobulären Gebilden in den roten Blutkörperchen durchsucht, wie sie von Schaudinn, v. Prowazek und Balfour beobachtet und als Entwicklungsstadien des Erregers gedeutet wurden. Auch in histologischen Schnitten von mit Blut der kranken Hühner vollgesogenen Milben, von denen noch später die Rede sein wird und die in großer Zahl angefertigt wurden, ist nach solchen Gebilden eifrig geforscht worden. Doch ist mir weder in Erythrozyten, noch in Milben bei den von mir untersuchten Fällen jemals ein eindeutiger Nachweis derartiger Körperchen gelungen. Allerdings fordern derartige Untersuchungen hinsichtlich der Technik und der Deutung von Befunden sehr weitgehende Spezialkenntnisse auf dem Gebiete der Parasitologie, so daß dieser Teil der noch zu lösenden Aufgaben über die Spirochätose meines Erachtens wohl nur von sehr gewiegten Parasitologen in einer jeden Zweifel ausschließenden Weise einer Lösung zugeführt werden könnte. In bezug auf die vielumstrittene Frage, ob die Geflügelspirochätose ein Entwicklungsstadium in den Erythrozyten bzw. in den sie übertragenden Ektoparasiten des Geflügels durchmacht, möchte ich mich daher als Vertreter eines anderen Fachgebietes nicht äußern.

Für die natürliche Uebertragung der Geflügelspirochätose kommen nach übereinstimmenden Befunden verschiedener Forscher Zecken von der Gattung Argas (A. persicus, miniatus, victoriensis Sweet, reflexus) und Ornithodorus moubata in Betracht. Uebertra-

gungsversuche mit anderen Ektoparasiten des Geflügels sind mehrfach angestellt worden. Für die durch Hühnerläuse (Menopon) und durch Stomoxys calcitrans erfolgreich bewerkstelligte Infektion von Geflügel mit Spirochäten wird eine rein mechanische Uebertragung angenommen. Schellack ist auf Grund seiner Beobachtungen zu der Meinung gekommen, daß Mallophagen und Dermanyssus gallinae De Geer (avium Dug.) als Ueberträger für die Geflügelspirochätose nicht in Betracht kommen.

In den von mir untersuchten Fällen von Geflügelspirochätose war das Geflügel mit Zecken nicht behaftet. Vielmehr führe ich das Zustandekommen der Infektion hier teils auf eine vermutlich mechanische Uebertragung der Spirochäten seitens der an den Kadavern stets zahlreich angetroffenen Exemplare von Dermanyssus gallinae De Geer (avium Dug.) zurück, teils schreibe ich sie einer möglicherweise per os erfolgten Ansteckung zu. Besonders stark mit Dermanyssus gallinae De Geer war der an 1. Stelle angeführte Hühnerbestand W. befallen, wo nicht nur jedes einzelne Huhn von Milben förmlich übersät war, neben denen sich stets auch mehr oder weniger zahlreiche Federlinge vorfanden, sondern wo auch die Wände des Hühnerstalles einen dichten Belag von Milben und Milbenbrut aufzuweisen hatten. Das Befallensein der Hühner mit so übermäßig vielen Ektoparasiten dürfte jedenfalls auch sekundär durch Entstehung von Anämie und Kachexie die starke Verbreitung der Seuche in dem Hühnerbestande begünstigt haben. In dem Geflügelbestande G., wo Ektoparasiten bei den Hühnern nur spärlich vorhanden waren, ist es zu einer stärkeren Ausbreitung der Spirochätose nicht gekommen. Im Geflügelbestande B., wo ich zuletzt Gelegenheit hatte, Spirochätose festzustellen, die dort verheerend aufgetreten ist, war das Geflügel durchwegs überaus stark von Dermanyssus gallinae De Geer befallen. Für die Uebertragung der Geflügelspirochätose durch Dermanyssus gallinae De Geer in den von mir beobachteten Fällen sprechen mehrere Momente. Abgesehen von der nahen Verwandtschaft der Gamasidae, denen Dermanyssus gallinae De Geer zuzuzählen ist, mit den als Ueberträger der Spirochätose bekannten Argasidae, handelt es sich auch hier um blutsaugende Parasiten. Besondere Bedeutung in dieser Hinsicht dürfte aber dem Umstande beizumessen sein, daß mir der Nachweis von Geflügelspirochäten wiederholt in mit Hühnerblut vollgesogenen Exemplaren von Dermanyssus gallinae De Geer gelungen ist, selbst auch noch viele Stunden nach dem Tode der Hühner, wo die Parasiten von der Haut des Kadavers nach verschiedenen oberflächlich gelegenen Stellen des Gefieders abgewandert waren. Die Untersuchung auf das Vorhandensein von Geflügelspirochäten im Milbenkörper wurde in der Weise vorgenommen, daß einzelne Milben, die bei krankem oder verendetem Geflügel entnommen worden waren, in einem Tropfen Burri-Tusche zerquetscht und verrieben und nach dem Lufttrocknen unter der Immersion besichtigt wurden. In jedem Falle sind auf diese Weise neben Vogelblutkörperchen mehr oder weniger zahlreiche, überwiegend kurze, oft nur mehr in Form von Fragmenten erkennbare Spirochäten sichtbar gemacht worden. Die Möglichkeit einer mechanischen Uebertragung der Geflügelspirochäte durch Dermanyssus gallinae De Geer dürfte daher nicht zu bezweifeln sein. Des weiteren wurde auch die Frage einer Prüfung unterzogen, ob Dermanyssus gallinae De Geer etwa

nicht auch als echter Zwischenwirt bei der Geflügelspirochätose in Betracht kommt, weshalb nach Entwicklungsstadien in der Milbe geforscht wurde. Solange das von infizierten Hühnern stammende Milbenmaterial in großen Mengen zur Verfügung gestanden hat, ist es, wie schon vorhin ausgeführt wurde, nicht gelungen, in vielen Reihen histologischer Schnittserien von in Paraffin eingebetteten Milben, ein oder das andere als Entwicklungsstadium der Spirochäte zu deutende Gebilde in Organzellen, namentlich in Darmepithelien von Dermanyssus gallinae De Geer, aufzufinden. Die diesbezüglichen Untersuchungen erlitten durch das rasche Erlöschen der Spirochätose in den Geflügelbeständen und durch den infolge der Kostspieligkeit solcher Experimente bedingten Mangel an künstlich infizierten Hühnern, somit infolge der Unmöglichkeit, infizierte Milben zu erlangen, eine unvorhergesehene Unterbrechung und konnten bisnun nicht wieder aufgenommen werden. Von zwei mit einigen Exemplaren von Dermanyssus gallinae De Geer, die mit infiziertem Hühnerblut vollgesogen waren, künstlich besetzten gesunden Hühnern ist eines nach 4 Tagen unter Erscheinungen von Schwäche und Schlafsucht erkrankt und, nachdem diese Symptome einer anscheinend gelungenen Uebertragung der Krankheit 3 Tage angedauert hatten, wieder allmählich vollkommen genesen, ohne daß in mehrfach aus der peripheren Blutbahn entnommenen Blutproben der Nachweis von Spirochäten hätte erbracht werden können. Das 2. von diesen beiden Hühnern, dessen Blut anscheinend gleichfalls von Spirochäten freigeblieben ist, ist sichtlich überhaupt nicht erkrankt. Nach den von Marchoux und Couvy erhobenen Befunden kommt eine Infektion mit Spirochätose erst zustande, sobald dem Geflügel mindestens 17 000 Spirochäten intravenös bzw. 20 000 Spirochäten intramuskulär einverleibt werden. 735—17 000 intramuskulär injizierte Spirochäten sind nicht imstande zu infizieren, sondern eine innerhalb dieser Grenzen liegende Zahl von Spirochäten bewirkt Immunität. Eine noch geringere Anzahl in den Tierkörper eingebrachter Spirochäten bleibt vollkommen wirkungslos. Es ist daher nicht ausgeschlossen, daß in den beiden Infektionsversuchen, in denen von mir mit Spirochäten infizierte Vogelmilben auf gesunden Hühnern angesetzt wurden, zu wenig zahlreiche Infektionserreger zur Verfügung gestanden haben, um eine Spirochätose bei den Versuchshühnern auszulösen. Auch diese Versuche, die Möglichkeit einer Uebertragung der Geflügelspirochätose durch Saugenlassen der uns namentlich interessierenden Vogelmilbe zu ermitteln, mußten bedauerlicherweise gleichfalls aus den schon vorhin angeführten Gründen aufgegeben werden. Eine weitere Möglichkeit für eine Infektion des Geflügels erblicke ich darin, daß ich in dem von kranken und verendeten Hühnern stammenden Darminhalte und in dem aus den Käfigen aufgelesenen Kot des kranken Geflügels häufig Spirochäten festzustellen vermochte. Es wäre daher mit einer auf enteralem Wege per os vermittelten natürlichen Infektion des Geflügels zu rechnen.

Die in Oesterreich beobachteten Fälle von Spirochätose sind nicht in der für das Auftreten der Erkrankung günstigsten heißen Jahreszeit, sondern in den Monaten September und Oktober aufgetreten.

In den von mir beobachteten Fällen von Geflügelspirochätose zeigte das Geflügel folgende Krankheitssymptome: Häufig Anämie (Kamm, Kehllappen, Schleimhäute und Innenorgane) und starke, im Verlaufe der Krankheit rasch fortschreitende Abmagerung. Gesträubtes

Gefieder. Körpertemperaturen bis 40° C. Appetitmangel. Vorerst Benommenheit des Sensoriums, später andauernde Schlafsucht. Anhaltende, sehr übelriechende, mißfärbige Durchfälle. Allmählich zunehmende Schwäche. Schwankender Gang. Herabsinken des Kopfes, Hängenlassen der Flügel. Krampfartiges Zusammenziehen der einwärts gekrümmten Zehen. Umfallen der im Endstadium gelähmt erscheinenden Tiere und Unvermögen, sich wieder zu erheben. Krämpfe.

Bei der Sektion des an Spirochätose verendeten Geflügels wurden die nachstehend angeführten pathologisch-anatomischen Veränderungen vorgefunden: Starke Abmagerung. Blasse, gelbrote oder dunkel blaurote Verfärbung von Kamm und Kehllappen. Blässe der sichtbaren Schleimhäute. Die Kloake und ihre Umgebung von sehr übelriechenden, mißfärbigen Kotmassen beschmutzt. Das Gefieder stets mit mehr oder weniger zahlreichen Ektoparasiten, überwiegend Exemplaren von Dermanyssus gallinae De Geer, besetzt. Der Dünndarm manchmal zur Gänze blaurot schimmernd oder hyperämisch, vereinzelt mit stecknadelstichgroßen Schleimhautblutungen versehen. Die Leber zumeist vergrößert, von fahler, braungelber (ockergelber) Farbe, von mehr oder weniger zahlreichen miliaren, bis etwa hirsekorngroßen lichten, graugelblichen Flecken durchsetzt. Regelmäßiges Vorhandensein eines zuweilen hochgradig entwickelten Milztumors. Die Farbe der Milz meistens bläulich- bis rötlich-grau und hell gesprenkelt, das Milzparenchym tiefbraunrot, stark brüchig, nekrotische Herde enthaltend. Die Nieren in allen Fällen stark geschwollen, hell- bis dunkelockergelb gefärbt, von auffallend brüchiger Beschaffenheit. Der Herzbeutel meistens beträchtliche Mengen einer klaren, weingelben Flüssigkeit enthaltend, manchmal auch mehr oder weniger reichliches fibrinöses Exsudat. Auch Hyperämie und Oedem der Lungen waren vereinzelt zu beobachten.

Klinisch und pathologisch-anatomisch ist die Diagnose Spirochätose nicht ohne weiteres zu stellen, da die sich hieraus ergebenden Krankheitsbilder durchaus nicht eindeutig in Erscheinung treten. Vor allem besteht zwischen den pathologisch-anatomischen Veränderungen bei der Geflügelspirochätose und jenen bei Geflügelcholera oft sehr weitgehende Uebereinstimmung. Aber auch der Leukämie ähnliche, auf Milz und Leber beschränkt bleibende pathologisch-anatomische Organveränderungen sind in manchen Fällen anzutreffen.

Hinsichtlich der Diagnosestellung bei Geflügelspirochätose ist der mikroskopischen Untersuchung von gefärbten oder nach dem Tuscheverfahren hergestellten Blutausstrichen besondere Wichtigkeit beizumessen. Auch bei der Untersuchung von Nativpräparaten aus dem infizierten Blute im Dunkelfeld ist der Nachweis der Spirochäten verhältnismäßig leicht zu erbringen. Selbst einige Tage nach dem Tode des Geflügels ist in Ausstrichpräparaten aus dem Herzblute eine für die Sicherstellung der Diagnose ausreichende Anzahl gut erhaltener Spirochäten vorhanden, wie dies bei den von mir bis zu 3 Tagen post mortem untersuchten Hühnern festgestellt werden konnte.

Nach den in Oesterreich gesammelten Erfahrungen muß die Prognose bei Geflügelspirochätose in jenen Fällen, die einer Behandlung mit Arsenpräparaten nicht zugänglich gemacht werden, ungünstig lauten. Der raschere oder langsamere, stets aber zahlreiche Opfer unter den Tieren des infizierten Bestandes fordernde Verlauf der Erkrankung wird zweifellos von örtlichen und klimatischen Verhältnissen wesentlich

beeinflußt. Vorwiegend dürfte dabei der Reinhaltung der betreffenden Lokalität und dem Umstande, ob Ungeziefer vorhanden ist, das für die Uebertragung der Spirochäten in Betracht kommt, besondere Wichtigkeit zukommen. Häufige, sorgfältige Reinigung und Desinfektion der Volieren und eine in geeigneter Weise durchgeführte energische Bekämpfung des dem Geflügel anhaftenden Ungeziefers erscheinen unerläßlich, sofern ein Weiterschreiten der Infektion verhütet werden soll.

Wie sich in den vorangeführten Fällen von Geflügelspirochätose gezeigt hat, besitzen wir in dem Atoxyl ein Mittel, das vortrefflich geeignet erscheint, die Krankheit chemotherapeutisch erfolgreich zu beeinflussen. Mit Dosen von 0,04—0,05 g Atoxyl konnte nicht nur eine ausreichende Schutzwirkung, sondern auch, namentlich bei 2- bis 3maliger Wiederholung der Impfung in 1- bis mehrtägigen Intervallen, eine sichere Heilwirkung erzielt werden.

Abschließend bringe ich nun noch den Herren Tierärzten Dr. Hans Beitl und Dr. Stiglmayer sowie Herrn cand. med. vet. Richard Mattel für ihre Zuvorkommenheit und für die gütige Vermittlung von Untersuchungsmaterial, letzterem Herrn überdies auch noch für die Anfertigung der beiden farbigen Abbildungen von Levaditi-Präparaten den besten Dank zum Ausdruck.

Erklärung der Tafelabbildungen.

Tafel I.

Fig 1. Spirochätosekrankes Huhn auf der Höhe der Erkrankung. (Schlafsucht, gesträubtes Gefieder, Lähmung der Flügel, Durchfall.)

Fig. 2. Vier verschiedene Grade der Milzschwellung bei Hühnerspirochätose im Vergleiche zu den beiden Milzen a und b zweier gesunder Hühner.

Fig. 3. Fibrinöse Pericarditis, Spirochätose, Huhn.

Fig. 4. Spirochäten und Bakterien, Darminhalt, Spirochätose, Huhn. Tuschepräparat.

Fig. 5. Quetschpräparat (Tuschefärbung) von einer bei einem an Spirochätose verendeten Huhn abgenommenen Vogelmilbe, Dermanyssus gallinae (De Geer). Spiorchäten. In der Mitte ein Vogelblutkörperchen.

Fig. 6. Quetschpräparat (Tuschefärbung) von einer bei einem an Spirochätose verendeten Huhn abgenommenen Vogelmilbe, Dermanyssus gallinae (De Geer). Spirochäten. Im linken, oberen Quadranten ein Vogelblutkörperchen.

Fig. 7—9. Blut, entnommen auf der Höhe der Erkrankung bei einem mit Spirochätose infizierten Huhn.

Fig. 10. Herzblut, Huhn, Geflügelspirochätose. Befund 9 Std. nach dem Tode.

Die mikrophotographischen Aufnahmen Fig. 4—10 erfolgten mit Zeiß Phoku und homogener Immersion $^1/_{12}$.

Tafel II.

Fig. 11. Hühnerspirochätose, Milz, Fall 5. Silberimprägnation nach Levaditi. Spirochäten verstreut im Milzgewebe.

Fig. 12. Hühnerspirochätose, Großhirn, Fall 8. Silberimprägnation nach Levaditi. Spirochäten in einem Blutgefäß.

THE LIBRARY
OF THE
UNIVERSITY OF ILLINOIS

Fig. 1.

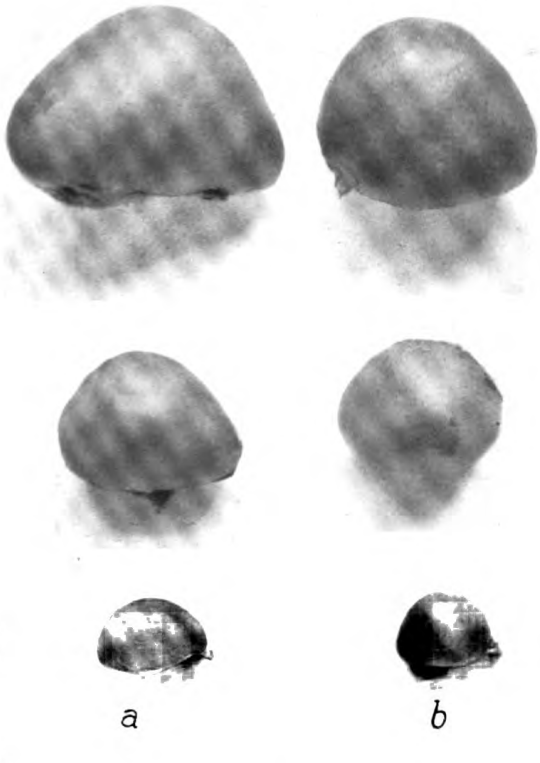


Fig. 2.

Fig. 3.

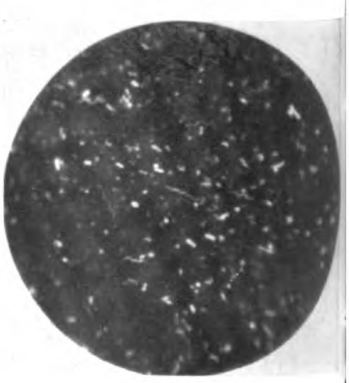


Fig. 4.

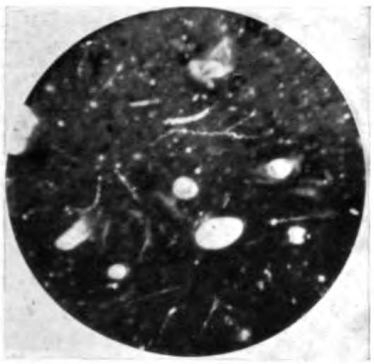


Fig. 5.

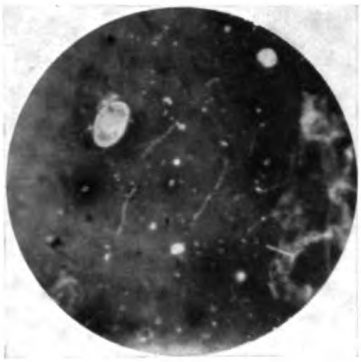


Fig. 6.

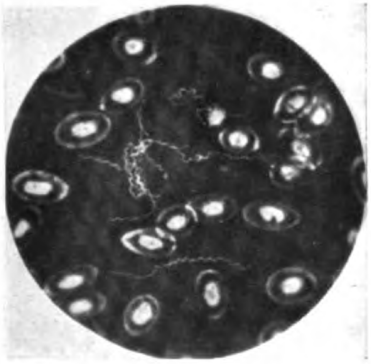


Fig. 7.

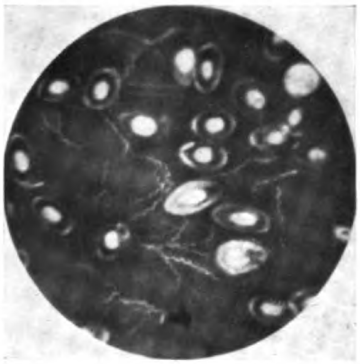


Fig. 8.

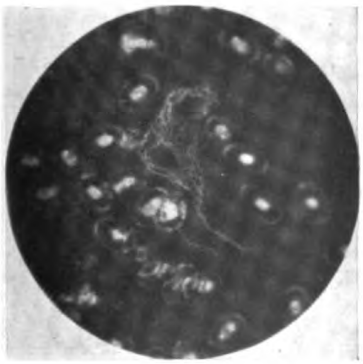


Fig. 9.

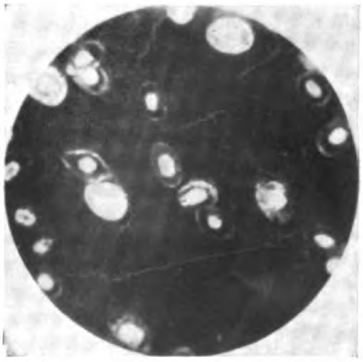


Fig. 10.

er in **Jena.**

Fig. 1.

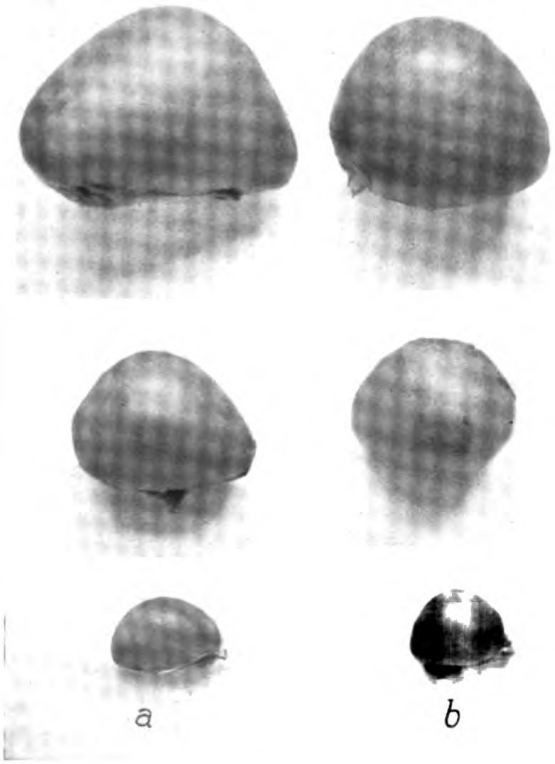


Fig. 2.

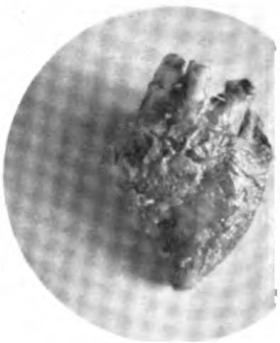


Fig. 3.

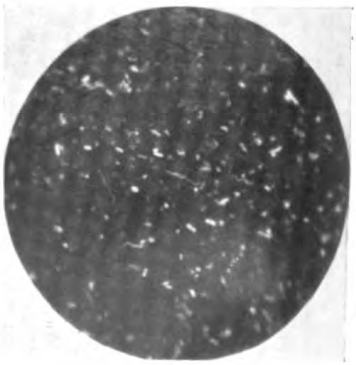


Fig. 4.

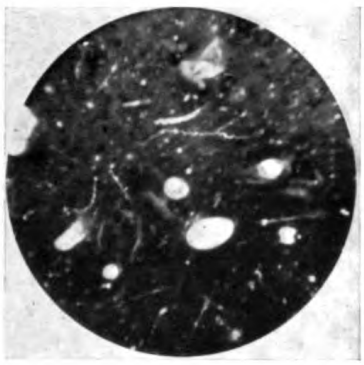


Fig. 5.

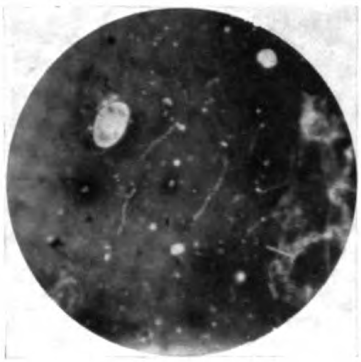


Fig. 6.

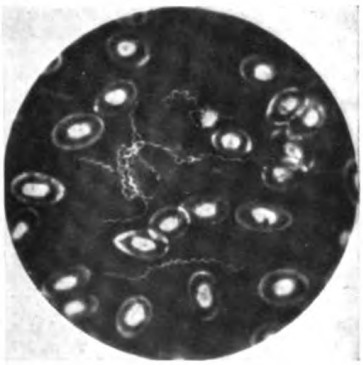


Fig. 7.

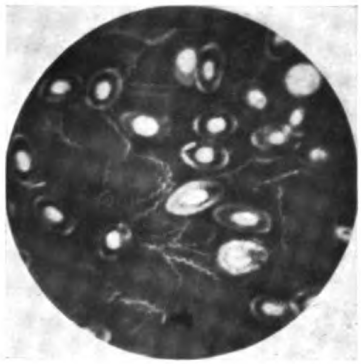


Fig. 8.

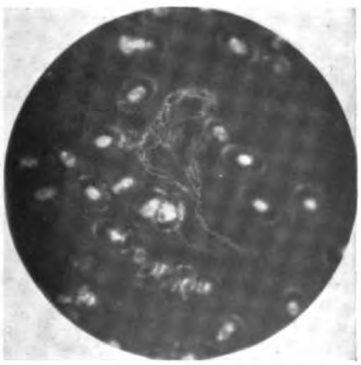


Fig. 9.

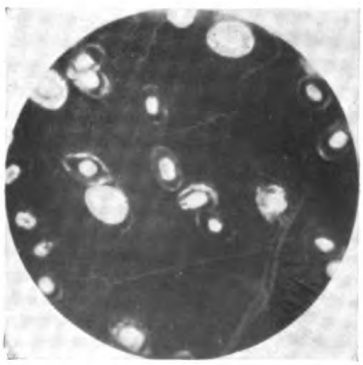
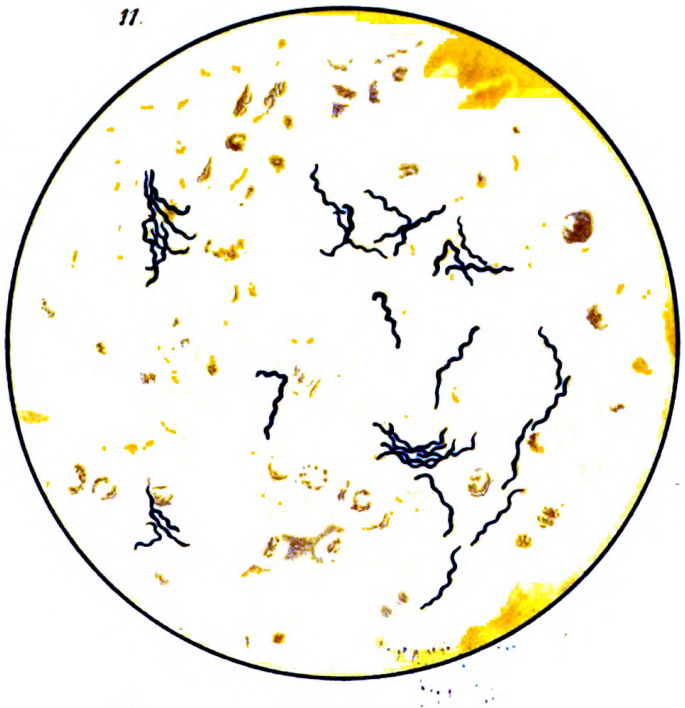


Fig. 10.

her in Jena.

THE LIBRARY
OF THE
UNIVERSITY OF ILLINOIS

11.



12.

Verlag von Gustav Fischer in Jena.

Lith. Anst. v. E. Giltsch, Jena.

THE LIBRARY
OF THE
UNIVERSITY OF ILLINOIS

Nachdruck verboten.

Meningitis cerebrospinalis bei Pferden.

[Aus dem Bakteriologischen Institut Smolensk (Direktor: Prof. B. Patzewitsch).]

Von Prof. Dr. **B. Patzewitsch** und Dr. **W. Klutscharew.**

Im Laufe des Jahres 1922 wurde von Dr. Klutscharew Meningitis cerebrospinalis bei Pferden an 4 Stellen des Smolensker Gouvernements beobachtet. Bis dahin trug sie einen sporadischen Charakter und wurde als mehr oder weniger ansehnliche Enzootie zum erstenmal beobachtet.

Es gelang zwar nicht, die Ursache des Auftretens der Cerebrospinalmeningitis aufzuklären, doch wurde zweifellos festgestellt, daß die Krankheit nicht eingeschleppt war, sondern die Infektion lokaler Natur und örtlicher Herkunft war, da hauptsächlich heimische Tiere befallen wurden, welche in keiner Berührung mit anderen gewesen waren. Es ist interessant, zu notieren, daß im selben Jahre auch bei Menschen eine ungemeine Verbreitung der Meningitis cerebrospinalis zu bemerken war. So wurden nach den Angaben der statistischen Unterabteilung der Smolensker Gouvernementssektion für Gesundheitswesen im Laufe des Jahres 1922 110 Krankheitsfälle registriert.

Die Krankheit verlief in zweierlei Form: einer „stillen" und einer „tobenden". Die „stille" Form war gewöhnlich durch Anzeichen von Mattigkeit des Tieres, Schläfrigkeit und überhaupt allgemeine Depressionserscheinungen charakterisiert. Man beobachtete eine taumelnde, schwankende Gangart. Das Tier bewegte sich in einer Richtung fort, auf Gegenstände stoßend. Hautsensibilität vermindert. Temperatur normal oder etwas erhöht. Appetit fehlte. Manchmal wurden Kolikerscheinungen beobachtet.

Bei der „tobenden" Form äußerte sich die Krankheit plötzlich, unter Erscheinungen heftigster Erregung: das Tier reagierte heftig auf äußere Reize, fiel Menschen an, stieß auf Wände. Krämpfe einzelner Muskelgruppen wurden bemerkt. Atmung oberflächlich, röchelnd. Die Darmfunktion hörte völlig auf. Temperatur 36—37° C, bisweilen noch niedriger (Hypothermie). Der allgemeine Zustand des Tieres war äußerst schwer: das ermüdete, durch Qualen entkräftete Tier stürzte zu Boden. Während des Tobanfalles läuft es oft vom Felde oder von der Arbeit, ohne sich Rechenschaft zu geben, ohne die ihm im Wege liegenden Gegenstände oder irgendwelche anderen Hindernisse zu beachten. Häufig fand man diese Tiere in Gräben, in Sträucher verwickelt oder zwischen 2 Baumstämmen erdrosselt.

Die Krankheit verlief akut. Der Tod trat am 2. Tage nach der Erkrankung ein, unter Lähmungs- und Krampferscheinungen.

Das von uns beobachtete Krankheitsbild ist fast völlig identisch mit dem von Hutyra, Marek und anderen Autoren beschriebenen.

Vom klinischen Standpunkt aus hatten wir es in diesem Falle ohne Zweifel mit Meningitis cerebrospinalis zu tun. Diese wird bekanntlich von einem besonderen Kokkus oder Diplobazillus hervorgerufen, welcher von Johne entdeckt und hauptsächlich von Ostertag, Lesage und Fridol erforscht worden ist.

Aber die Literatur dieser Krankheit ist äußerst arm, und daher entschließen wir uns, einige, wie es uns scheint, neue Befunde, die sich auf den Erreger dieser Infektion beziehen, zu publizieren:

Von Gehirn und Rückenmark von 4 Pferden wurden von uns 5 Stämme des Erregers der Meningitis cerebrospinalis isoliert. Das von uns erhaltene Material war fraglos frisch; die Pferdeköpfe wurden unmittelbar nach dem Tode, nach 3—4 Std., eingeliefert; in einigen Fällen entnahm einer von uns das Material an Ort und Stelle und schaffte es persönlich sogleich ins Laboratorium.

Verunreinigung von außen wurde von uns völlig ausgeschlossen.

Morphologie: Der Erreger der Meningitis cerebrospinalis ist ein Kokkus oder Diplokokkus; seine Größe schwankt unserer Ausmessung nach zwischen 0,7—11,5 im Diameter. Bei Untersuchung der Ausstriche von allen uns gelieferten Fällen, aus Cerebrospinalflüssigkeit sowie auch Gehirnventrikelflüssigkeit und Gehirn- und Rückenmarksubstanz findet sich der Erreger in sehr geringer Anzahl als Kokkus oder als paarweise gelagerter Kokkus; die Seiten, welche zueinander gewendet sind, sind abgeplattet, wodurch man den Eindruck zweier etwas auseinandergerückter Halbkreise erhält, die im allgemeinen an den Neißerschen Gonococcus erinnern. Intrazellulär konnten wir keinmal den Mikroorganismus konstatieren.

Im Blute wurde er von uns nicht entdeckt; die Blutimpfungen blieben unbedingt steril.

Färbung. Der Meningococcus läßt sich mit allen Anilinfarben färben. Bezüglich der Färbung nach Gram muß bemerkt werden, daß häufig ein und dieselbe Kultur eine grampositive und gramnegative ergibt, d. h. ein Teil der Kokken und Diplokokken ist grampositiv, der andere gramnegativ, wie schon Lesage[1]) beobachtet hat.

Diesbezüglich müßte man eine Kultur nach Burri aus einem einzelnen Mikroorganismus erhalten, dann würde es sich vielleicht aufklären, ob wir es mit zweierlei Mikroorganismen oder mit einem, der sich nur verschieden zur Gram-Färbung verhält, zu tun haben.

Biologie. Der Meningococcus ist aërob, gedeiht besser bei Sauerstoffzutritt, kann aber auch unter anaëroben Bedingungen wachsen (fakultative Anaërobier). Die 1. Generation des Meningococcus direkt aus den Gehirnflüssigkeiten oder aus der Gehirn- oder Rückenmarksubstanz wächst nicht auf gewöhnlichem Nährboden. Beim Impfen von Meßnerscher Bouillon mit infiziertem Material bei einer Temperatur von 37,5° C wird ein ansehnliches Wachstum erst am 2. oder 3. Tage bemerkt.

Weiterhin aber, schon bei der 2. Generation, ergibt der Meningococcus nach einer unmittelbaren Abimpfung von Ascitesbouillon nach 24 Std. ein reichliches Wachstum.

---

1) Lesage, La méningite cerebrospinale. (Rev. genér. de méd. vétér. T. 20. p. 120.)

Auf gewöhnlicher Bouillon, der Martinschen und auch auf Zuckerbouillon wächst der Meningococcus in Gestalt von Körnern, die sich längs den Reagenzglaswänden verbreiten. Am Boden bildet sich ein bedeutender Flockenniederschlag, die Bouillon bleibt aber durchsichtig. Bei völliger Grundfällung und langem Stehen bildet der Meningococcus am Boden ein recht dichtes und zähes Sediment, welches beim Schütteln schlängelnd emporsteigt.

Ueberhaupt unterscheidet sich das Wachstum des Meningococcus durch nichts von dem des Streptococcus, wodurh er sich scharf vom Gonococcus und auch vom Weichselbaumschen Meningococcus unterscheidet.

Bei mikroskopischer Untersuchung von Bouillonkulturen werden zugleich mit Kokken und Diplokokken, jedoch in größerer Anzahl, Streptokokken beobachtet, welche aus großen Kokken bestehen. Die Ketten lagern oft gruppenweise in Gestalt eines Konglomerats. Einzelne Kokken haben häufig Kaffeebohnenform.

In Kulturen färbt sich der Meningococcus nach Gram.

Auf einfachem schrägen Agar wächst er in Gestalt von Kolonien geringer Größe, welche nicht miteinander konfluieren, oder in Form eines zarten, körnigen Belages.

Beim Impfen von Glyzerinagar erhält man ein etwas reichlicheres Wachstum, das aber nicht charakteristisch ist.

Auf Kartoffeln wächst der Meningococcus in den ersten Tagen nach der Impfung in Gestalt eines kaum bemerkbaren weißlichen Belages; bei dauerndem Verbleib der Kulturen im Laufe von 1—$1^1/_2$ Wochen bei Zimmertemperatur wird das Wachstum deutlicher und nimmt die Form eines weißlichen, schleimigen Belages an. Auf Blutserumagar ruft er keine Hämolyse hervor, und auf Gelatine wächst er langsam. Am 8. Tage erscheinen feine rundliche Kolonien. Bei Stichimpfung findet eine Verdünnung statt.

Bei der Impfung mit Kulturmedien mit Zusatz von Kohlehydraten erhielten wir Resultate, welche auf weiter unten folgender Tabelle angeführt werden. Es muß aber bemerkt werden, daß man am 1. Tage

Benennung der Meningokokkenstämme	Alter der Kulturen Std.	Benennung der Kohlehydrate					
		Glukose	Maltose	Saccharose	Laktose	Mannit	Dextrin
Meningococcus-Stamm A	24	+++	+++	+++	−	−	++
	48	+++	+++	+++	−	−	++
	72	+++	+++	+++	−	−	++
Meningococcus-Stamm A_1	24	+++	+++	−	−	−	+
	48	+++	+++	−	−	−	+
	72	+++	+++	+++	−	−	++
Meningococcus-Stamm B	24	+++	+++	−	−	−	−
	48	+++	+++	−	+	−	−
	72	+++	+++	−	++	−	−
Meningococcus-Stamm B_2	24	+++	+++	−	+	−	±
	48	+++	+++	−	++	−	±
	72	+++	+++	−	+++	−	±
Meningococcus-Stamm C	24	+++	+++	−	+	−	−
	48	+++	+++	−	++	−	±
	72	+++	+++	−	+++	−	±

ein etwas anderes Ergebnis der Fermentation erhält, als in den folgenden 2—3 Beobachtungstagen.

Einige Kohlehydrate werden am 1. Tage beim Verbleibe im Thermostaten von 37,5° C sehr schwach zerlegt, und eine völlige Fermentation geht erst nach 2—3 Tagen vor sich (Tabelle).

Aus der Tabelle ersieht man, daß die Fermentation von Glukose und Maltose bei allen von uns isolierten Stämmen gut in den ersten 24 Std. zu beobachten ist.

Was die Saccharose betrifft, so ist die Fermentation dieses Kohlehydrates mit Hilfe des Meningococcus keine konstante Erscheinung: bei dem einen Stamm (A) geht eine komplette Fermentation schon nach 24 Std. vor sich, beim 2. (A_1) erst nach 72 Std.

Die Fermentation von Dextrin bei den Stämmen A und A_1 war mittleren Grades (++); Gärung von Laktose und Mannit fand nicht statt. Was die anderen Stämme (B_1, B_2 und C) anbelangt, so unterschieden sie sich von den vorhergehenden dadurch, daß sie am dritten Tage eine völlige Fermentation von Laktose ergaben und Dextrin fast gar nicht oder nur schwach fermentierten (±). Die Frage, wodurch ein so scharfer biologischer Unterschied zwischen den Meningokokken, die ja Erreger ein und derselben Krankheit darstellen, zu erklären sei, zu beantworten, tragen wir Bedenken, um so mehr, als unsere nachfolgenden Versuche an Tieren keinen Zweifel hinterließen, daß wir es hier mit Erregern ein und desselben pathologischen Prozesses zu tun haben.

Natürlich bedarf die Frage, ob wir hier zweierlei Mikroben vor uns haben, und welche derselben der tatsächliche Erreger der Meningitis cerebrospinalis bei Pferden sei, und welche nur als zufällige Begleiterin (Begleitbakterium) erscheint, einer ferneren Erklärung mit Hilfe biologischer Versuche.

Pathogenität. Der Meningococcus cerebrospinalis ist pathogen für Pferde, Schafe und Ziegen (John und Ostertag).

Bei einer Impfung dieser Tiere mit einer Kultur in den Rückgratkanal kann man eine charakteristische Meningitis cerebrospinalis hervorrufen.

Nach der Ansicht früherer Autoren (Siedamgrotzky, Schlegel, Lesage, Frisson) ist der Meningococcus cerebrospinalis für Kaninchen, Meerschweinchen und Mäuse nicht pathogen. Nach John tötet eine intraperitoneale Injektion Meerschweinchen.

Unseren Beobachtungen nach wurden bei subkutaner Impfung von Pferden mit einer Meningokokkenkultur mehr oder weniger ansehnliche, der angewandten Dosis entsprechende Infiltrate am Impfungsort beobachtet. Die Temperatur steigt bis 38,5° C.

Bei einer Impfung von Kaninchen mit jedem Stamme, einzeln und auch mit einem Gemisch aller Stämme, erwiesen sich dieselben alle pathogen, und zwar sowohl bei intravenöser und intraperitonealer Injektion, als auch unter die Dura mater.

Bei Impfung einer unter die Dura mater von 0,25 ccm eintägiger Bouillonkultur, sowohl eines jeden Stammes im einzelnen, als auch des Gemisches aller Stämme, erfolgt der Tod des Kaninchens nach 26 Std. unter sehr charakteristischen Erscheinungen: Paralyse der hinteren Extremitäten und spastischen Konvulsionen der Halsmuskeln. Das Kaninchen liegt einige Stunden vor dem Tode auf dem Bauche mit zurückgeworfenem Kopfe. Hypothermie wird nicht beobachtet (Tem-

peratur 36,5° C). Ebensolche Erscheinungen beobachtet man bei intravenöser Injektion. Der Krankheitsverlauf ist jedoch viel langsamer. Der Tod tritt bei Injektion von 0,5 ccm Kultur nach 46 Std. ein. Bei intraperitonealer Injektion geht das Kaninchen unter Erscheinungen allgemeiner Sepsis nach 56—60 Std. zugrunde. Bei der Sektion der Tiere, welche der Impfung mit Meningokokken unter die Dura mater und in die Vene unterlegen waren, wurden keine besonders scharf ausgedrückten pathologischen Veränderungen bemerkt.

Durch Impfung von Gehirnflüssigkeit, Herz-, Leber- und Milzblut erhält man eine Meningokokkenreinkultur.

Auf Grund der angeführten Tatsachen scheint es uns, daß der von uns beschriebene Erreger der Meningitis cerebrospinalis bei Pferden sich etwas von dem früher geschilderten unterscheidet.

Ob aber der von uns isolierte Meningococcus der wahre Erreger der angeführten Krankheit ist, verlangt noch weitere Aufklärung.

Vakzination. Um diese Erkrankung, die in einigen Orten recht stark verbreitet war und einen hohen Mortalitätsprozentsatz annahm, prophylaktisch zu bekämpfen, wurde von uns eine Vakzine angefertigt. Diese stellt eine bei 56° C abgetötete Kultur dar, die in der Absicht, daß die bakterielle Masse dem Volumen nach in 1 ccm Vakzine nicht weniger als 0,1 ccm enthielt, 10fach konzentriert wurde.

Von der Wirkung dieser Vakzine zu sprechen, ist in Anbetracht der kleinen Anzahl von Versuchen vorläufig zu früh. Die Arbeiten in dieser Richtung werden fortgesetzt.

Nachdruck verboten.

Beobachtungen über Culiciden nebst Bemerkungen über Tabaniden und Simuliden.

[Hygienisch-parasitologisches Institut der Universität Lausanne.]

Von **B. Galli-Valerio.**

1. Culiciden (Ende Oktober 1922 bis Ende Oktober 1923).

a) Beobachtungen in den verschiedenen Jahreszeiten. Noch am 18. 11. 22 (Lufttemp. + 2°, Wassertemp. + 5°) waren die Larven von Th. annulata in Vidy sehr zahlreich. Eine Pfütze von 20 cm Diam. und 5 cm Wasser wimmelte von jungen Larven dieser Art. Die Puppen waren ziemlich selten. Ziemlich zerstreut waren auch die Larven von A. bifurcatus und sehr zahlreich diejenigen von Sayomyia und Ephemera. Während des ganzen Winters konnte man alle diese Larven finden. Am 18. 2. 23 (Lufttemp. + 7°, Wassertemperatur + 5°) wimmelte es in einer Pfütze von sehr kleinen Larven von Culex sp. und A. bifurcatus. Sie sahen wie 3—4 Tage alte Larven aus und stammten wahrscheinlich von Eiern, die überwintert hatten. Am 23. 3. (Lufttemp. + 9°, Wassertemp. + 14°) wimmelte es in Bodenvertiefungen, die im Winter mit feuchtem Laube gefüllt waren

und erst seit einigen Tagen Wasser enthielten, von Larven von Th. annulata von 6 mm Länge. Die ersten Puppen von A. bifurcatus erschienen am 12. 4. (Lufttemp. + 19°, Wassertemp. + 12°), die ersten Puppen von C. nemorosus Ende April, die ersten Larven von A. maculipennis in der 1. Woche Mai und die ersten Puppen am 18. 5. Eier von C. nemorosus, A. bifurcatus und A. maculipennis entschlüpften zahlreich Ende Mai (Lufttemp. + 15°, Wassertemperatur + 16°). Im Juni waren viele Pfützen ausgetrocknet, und Larven und Puppen von Culiciden fanden sich nur in sehr kleinen Wasseransammlungen. Am 20. 7. (Lufttemp. + 21°, Wassertemp. + 26°) zeigte sich sehr starke Entwicklung von Larven von C. pipiens, A. bifurcatus und A. maculipennis und von vielen Puppen der letzteren Art. Am 23. 8. (Luft- und Wassertemp. + 18°) war starke Entwicklung von Larven von Th. annulata, und noch am 26. 9. (Lufttemp. + 19°, Wassertemp. + 20°) fand ich Puppen von A. maculipennis, aber am 17. 10. (Lufttemp. + 15°, Wassertemperatur + 12°) waren die von A. maculipennis ganz verschwunden, und es fanden sich nur noch Larven von A. bifurcatus und Larven und Puppen von C. nemorosus und Th. annulata. Charakteristisch für den Sommer 1923 war die starke Entwicklung von A. maculipennis in Vidy, deren Larven ich in Pfützen fand, wo ich sie bisher nie gefunden hatte.

b) Beobachtungen über Brutplätze der Culiciden. Wie im Sommer 1921[1]) waren, obgleich viele Pfützen in Vidy eingetrocknet waren, die Culiciden sehr zahlreich. Meine Untersuchungen bestätigen also Martinis Annahme[2]), daß die Trockenheit nicht notwendig in Verbindung mit dem Verschwinden der Culiciden steht. Wie ich schon 1921 bemerkt habe, sammeln die Leute, wenn die Pfützen austrocknen, das Wasser in Tonnen, Gefäßen usw., um Garten und Gemüse zu begießen, und bereiten so gute Brutplätze für die Mücken. Wenn die Abflußkanäle nur sehr wenig Wasser enthalten, stagniert dasselbe an vielen Punkten, wo sich dann die Culiciden entwickeln[3]). Der kleine See im Park Bourget, der, wie ich letztes Jahr bemerkt habe[4]), ein starker Brutplatz für A. maculipennis geworden ist, wimmelte in diesem Sommer von Larven und Puppen dieser Art, obgleich viele Goldfische und Schleiche vorhanden waren. Dieser Fall zeigt, wie leicht ein Ort mit Anophelinen zu infizieren ist und Malaria sich verbreiten kann.

c) Beobachtungen über die Biologie und die Verbreitung der Culiciden. Im Winter 1922/23 haben in Lausanne viele Weibchen von C. pipiens und einige von A. maculipennis in den Häusern überwintert. Daß diese Weibchen sehr lange leben können, ohne Nahrung zu sich zu nehmen, zeigen die folgenden Experimente: 2 ♀ von C. pipiens, die Ende Sept. 1922 in einem Zimmer gefunden und in einen Käfig mit nur etwas Wasser gesetzt waren, lebten noch am 18. 11. Unglücklicherweise wurde der Käfig geöffnet, so daß die Untersuchung nicht fortgesetzt werden konnte. Von einigen ♂ und ♀ von Th. annulata, die am 22. 11. 22 sich entwickelt hatten, sind 2 ♀ und 1 ♂ am 28. 12. und 1 ♂ am 6. 1. gestorben.

1) Centralbl. f. Bakt. Orig. Bd. 87. 1922. S. 557.
2) Zeitschr. f. angew. Entom. Bd. 9. 1923. S. 121.
3) Centralbl. f. Bakt. Orig. Abt. I. Bd. 87. 1922. S. 557.
4) Ebenda. Bd. 90. 1923. S. 38.

Am 28. 10. 22 wurde ein Gefäß mit Larven und Puppen von Th. annulata in ein Fenster gesetzt. Bei + 3°, + 4°, + 5° entwickelten sich 3 ♂ und 2 ♀. Dann schneite und fror es, worauf 1 ♂ und 1 ♀ nach 30 Tagen eingingen. Die Imagines dieser Art sind also sehr widerstandsfähig den niederen Temperaturen gegenüber.

C. nemorosus begann in Vidy am 12. 4. zu stechen (Lufttemp. + 19°), und Ende Okt. stach noch C. pipiens in den Zimmern. Ende Juli und in den ersten Augustwochen waren die Weibchen von Aëdes gallii eine wahre Plage an den Ufern des Grubensees (1900 m). Sie stachen nur in der Sonne, aber nie, wenn es windig war. Auf meinen Händen stachen bis 20 Weibchen, die bis 5′ fixiert blieben. In dem See kamen noch viele Puppen vor, aber nur selten Larven dieser Art. Aëdes gallii habe ich in diesem Jahre auch in Chessy (1670 m) gefunden.

d) Zur Frage der misanthropen Anophelen. Seit einiger Zeit wird vielfach behauptet, daß Anophelinen, die sich gewöhnt haben, Tiere zu stechen, Menschen meiden, und daß Vieh, Kaninchen und Vögel eine wichtige Rolle bei der Bekämpfung der Malaria spielen. Es entsteht also eine Rasse von misanthropen Anophelen. Auch wurde gefunden, daß der Stechapparat solcher Anophelinen sich abändert, was aber absolut unrichtig ist. Bei vielen Parasiten, die Blutsauger sind, wie z. B. Flöhe und Läuse, bemerkt man sehr oft eine sehr typische Gewöhnung an das Blut einer Art, was aber bei den Culiciden absolut nicht der Fall zu sein scheint. Selbst bei strengen Parasiten, wie Flöhen und Läusen, bemerkt man manchmal, daß sie verschiedene Arten stechen; wie kann man dann annehmen, daß bei Culiciden, die so oft den Wirt wechseln, sich eine Rasse entwickeln kann, die, obgleich eine Art bisher sehr angegriffen hat, dies nicht mehr tut? Bedenkt man, daß selbst Th. annulata, die im allgemeinen die Menschen nicht sticht, in einigen Fällen Menschenblut saugt, daß Arten, wie An. plumbeus, C. ornata, Aë. gallii, die an Orten leben, wo Menschen sehr selten sind, diese sehr stark angreifen, so kann man unmöglich annehmen, daß typische Menschenblutsauger, wie A. bifurcatus und A. maculipennis, an Orten, wo die Menschen leben, sie vermeiden müssen, nur weil daselbst Vieh, Kaninchen und Vögel verbreitet sind. Daß die Anophelinen sehr gern in Ställen leben, liegt nur daran, daß es darin sehr warm ist. Hier aber stechen sie, wie ich speziell in Italien bemerkt habe, ganz gleichmäßig Tiere und Menschen. Nie habe ich so viel Malaria gesehen, wie in Gegenden, in denen Ställe mit Menschenwohnungen ganz gemischt sind. Der Zustand von Dörfern, wo die Malaria verschwunden ist, ist bezüglich der Ställe ganz wie vorher. Nur Chinin und Anophelen-Zerstörung haben die Krankheit bekämpft. Anzunehmen, daß man Malaria durch Hebung der Vieh-, Kaninchen- und Vögelzucht beseitigen könne, ist grundfalsch und sehr gefährlich für die Bekämpfung dieser Krankheit. Man hat bis jetzt zwar sichere Beweise erbracht, daß durch Viehzucht misanthrope Rassen von Anophelen entstehen, man hat aber vergessen, daß die Ställe sehr gute Schutzplätze für die Anophelinen sind, die von da in die Häuser fliegen und Menschen angreifen.

Daß diese Annahmen richtig sind, zeigen 2 Arbeiten, die ich jetzt von Amerika bekommen habe. Bull und King[1]) haben mit der Prä-

1) Amer. Journ. of Hyg. 1923. p. 491.

zipitinmethode das von Anopheles quadrimaculatus gesaugte Blut kontrolliert und Untersuchungen in Mound (Louisiana), einem Malariaort, gemacht. Die Resultate waren: 35,7 Proz. Kuhblut, 32,6 Proz. Pferdeblut, 16,1 Proz. Schweineblut, 8,3 Proz. Hundeblut, 4,3 Proz. Menschenblut, 3 Proz. Hühner- und Katzenblut, Malaria 4,3 Proz. Menschenblut, 3 Proz. Hühner- und Katzenblut, Malaria sehr verbreitet. Bull und Root[1]) haben experimentell festgestellt, daß A. quadrimaculatus Pferde-, Kuh- und Menschenblut nicht bevorzugt. Sie schließen: „It is definitely shown that neither horse nor cow afford absolute protection to man ... If a preference was manifested in any direction, it was in favor of man."

2. Tabaniden.

Auch 1923 waren die Tabaniden nicht so zahlreich wie 1921. Auf Alpenweiden begannen sie im Juni zu stechen. Am 17. 6. wurde ich auf den Rochers de Naye (2060 m) von H. pluvialis stark angegriffen. Diese Art und T. aterrimus und bromius haben mich gestochen: auf dem Gros Vanil carré (2197 m), Rocher plat (2197 m), Col de Combrettes (2149 m). T. bovinus war selten und kam nie so hoch vor. Er bleibt in der Nähe des Viehes und hat mich nicht gestochen, während von einigen Leuten behauptet wird, von dieser Art angegriffen zu sein.

3. Simuliden.

Simulium gallii war dieses Jahr seltener als 1922. Schwärme davon flogen auf den Rochers de Naye (2060 m), Haut Vallon des Evouettes (1800 m), Hautagrive (2180 m), Rocher plat (2197 m); sie verschwinden, wenn der Wind zu wehen beginnt.

Nachdruck verboten.

Balantidiencolitis kombiniert mit Typhus abdominalis. Bemerkungen zur Biologie und pathogenen Bedeutung des Balantidium coli.

[Aus dem Pathologischen Institut der Universität Jena (Direktor: Prof. Dr. Berblinger).]

Von Dr. phil. et med. **F. Danisch**, Assistenten des Instituts.

Mit 4 Abbildungen im Text.

Die Balantidienruhr gehört in Deutschland zu den seltenen Erkrankungen. In der gesamten Literatur sind etwa 200 Fälle beschrieben, von denen auf Deutschland 20 entfallen. Neuerdings berichtet Brandt aus der Kieler Medizinischen Klinik, daß innerhalb von 5 Monaten 3 Fälle von Balantidiencolitis zur Beobachtung kamen, und weist darauf

1) Amer. Journ. of Hyg. 1923. p. 491.

hin, daß es sich möglicherweise um eine Zunahme der Erkrankung handeln könne.

Eingehendere histologische Untersuchungen liegen in 4 Fällen beim Menschen (Solowjew, Klimenko, Askanazy, Jaffé), sowie in 2 Fällen bei Schimpansen (Christeller) vor. Die in den genannten Arbeiten noch ungeklärten Punkte ließen eine Nachprüfung der histopathologischen Verhältnisse bei der menschlichen Balantidienruhr angezeigt erscheinen. Stieda beobachtete in Ostpreußen 2 Fälle, in denen eine Balantidienruhr im Anschluß an Typhus auftrat. Ein gleichzeitiges Bestehen beider Erkrankungen nebeneinander ist bisher nicht beschrieben worden. In der Beobachtung, über welche ich berichte, ist die Balantidienruhr trotz wiederholter Stuhluntersuchung klinisch nicht festzustellen gewesen. Die Aufklärung blieb der anatomischen Untersuchung vorbehalten.

Die Möglichkeit der Koinzidenz beider Erkrankungen und die Wichtigkeit ihrer Kenntnis für den Kliniker wie Pathologen veranlaßt mich, das Ergebnis der anatomischen Untersuchung mitzuteilen.

Aus der Krankengeschichte, die mir von Herrn Geheimrat Stintzing in liebenswürdiger Weise zur Verfügung gestellt wurde, gebe ich die wichtigsten Befunde im Auszug wieder.

K., Landwirtsfrau, 64 Jahre alt.

Anamnese nur spärlich zu erhalten, da Pat. in somnolentem Zustand in die Klinik aufgenommen wird. Anfang Juli 1923 Tochter und beide Enkelkinder an Typhus abdomin. erkrankt und in die hiesige medizinische Klinik aufgenommen. Tochter an Typhus gestorben (S/N. 256/23).

Pat. ist Mitte August mit heftigen schleimig-blutigen Stühlen erkrankt, vom Arzt als Ruhr behandelt und unter dieser Diagnose am 29. Aug. 1923 in die Klinik eingeliefert worden.

Status praes.: Mittelgroße Pat. in dürftigem Kräfte- und Ernährungszustand. Gesicht eingefallen. Lungen ohne wesentlichen Befund. Herzgrenzen regelrecht, Töne leise, rein. Puls weich, regel- und gleichmäßig. Leib weich, keine Roseolen, Gurren in der Ileocöcalgegend und über der Flexura lienalis coli. Leber nicht zu fühlen, Milz gut fühlbar. Leib nicht druckempfindlich.

Harn: Albumen +, Z. —, Diazo —.

Blutbild: Leukozyten 2700

Stabkernige 4 Proz. Lymphozyten 37 Proz. Eosinophile —
Segmentkörnige 55 Proz. Mononukleäre 4 Proz.

3. Sept. Typhus serologisch und bakteriologisch bestätigt (agglutiniert auf Ty. I:400). Die schleimigen Durchfälle (6—8mal am Tage) und der Stuhldrang bestehen unverändert fort. Seit gestern zahlreiche Roseolen. Sensorium somnolent.

6. Sept. Pat. ist stark verfallen. Leib weich, eingesunken. Roseolen spärlicher. Gegen Mittag wird der Puls so schlecht, daß er kaum noch zu fühlen ist. Nach Herzmitteln abends Exitus.

Klinische Diagnose: Typhus abdominalis, Herzschwäche. Von dem Obduktionsbefund: S/N. 321/23 (7. Sept. 23) 13 Std. post mortem ist folgendes wichtig:

Weibliche Leiche in stark reduziertem Ernährungszustand. Allgemeine Totenstarre vorhanden. An beiden Extremitäten weite Hautvenen, beide Unterschenkel braun pigmentiert. Auf der Haut des Abdomens zahlreiche alte Striae. Haupthaar ergraut, Gebiß defekt. In der Kreuzbeingegend ein geschwüriger Defekt der Haut mit nekrotischem Gewebe im Ulcusgrunde.

Bauchhöhle: Serosa des Dünndarms spiegelnd. Auf dem Colon transversum und ascendens sieht man vereinzelte, etwa markstückgroße, schmierig belegte Partien, die durch das Netz verdeckt werden. In der Gegend der Flexura lienalis coli finden sich stärkere Verwachsungen des Colons mit der Bauchwand und der Umgebung.

Milz: mit der Umgebung verwachsen. Das Organ leicht vergrößert, von mittelfester Konsistenz. Auf dem Schnitt das Trabekelgerüst deutlich sichtbar, desgleichen der Follikelapparat, Pulpa mäßig abstreifbar.

Die Leber überragt um 2 Querfinger den Rippenbogen, Oberfläche glatt, Konsistenz prall. Auf dem Schnitt Läppchenzeichnung hervortretend, Peripherie der Läppchen gelb. Die Gallenblase wird unseziert dem Hygienischen Institut überlassen.

Magen: fast leer, Schleimhaut dunkelschwarz verfärbt. Die Schleimhaut des Duodenums und Jejunums ist hyperämisch und aufgequollen erscheinend.

Im unteren Ileum finden sich im Bereich der Peyerschen Plaques vereinzelte, etwa markstückgroße, rundliche Geschwüre, die von einem wallartigen Rand umgeben sind, und teils mit grünlichen Belegen bedeckt sind, teils schon beginnende Ablösung der Schorfe erkennen lassen.

Im Colon zahlreiche Geschwüre in sehr dichter Gruppierung, die meist rundlich, von Erbsen- bis Markstückgröße sind und stellenweise konfluieren. Man sieht auch quergestellte zackige Ulzera, mit überhängenden Rändern. Am ausgeprägtesten ist der Prozeß nahe der Valvula Bauhini und an der Flexura lienalis. Die Ulzera erstrecken sich teilweise bis zur Serosa, vereinzelt stehen sie im Begriff der Perforation und sind an diesen Stellen vom Netz überdeckt, welches hier durch exsudiertes Fibrin Verklebung zeigt.

Im Rektum finden sich etwas spärlicher bis zehnpfennigstückgroße Geschwüre, welche die gleiche Beschaffenheit wie die im Colon beschriebenen haben. Die mesenterialen und paraaortalen Lymphdrüsen sind vergrößert, markig weich auf der Schnittfläche.

Nieren: etwas klein, Kapsel leicht abziehbar. Auf dem Schnitt Grenze von Rinde und Mark verwaschen, die Transparenz herabgesetzt.

Beckenorgane ohne besonderen Befund.

Die geschwürigen Prozesse im Ileum entsprachen ihrer Lokalisation, Form und Beschaffenheit nach vollkommen den beim Ileotyphus vorkommenden. Dagegen boten die Veränderungen des Colons ein so eigentümliches, durchaus nicht dem des Colotyphus entsprechendes Bild, daß zuerst an eine Mischinfektion mit Dysenteriebazillen gedacht wurde. Dem Hygienischen Institut wurden deshalb zur bakteriologischen Untersuchung Stücke des Colons übersandt.

Anatomische Diagnose: Ileotyphus im Stadium der Nekrose und Ulzeration. Ulzerierende, nekrotisierende Colitis und Proctitis. Markige Schwellung der mesenterialen und paraaortalen Lymphdrüsen. Braune Atrophie des Herzmuskels. Stauungsleber mit Verfettung, Parenchymdegeneration der Nieren, akute Milzhyperplasie, Hirnödem, alte Pleuraadhäsionen.

Bericht des Hygienischen Instituts:
Galle: Typhusbazillen und Coli } nachgewiesen.
Milz: „ „ „ und Proteus }
Darm: Dysenterie- und Pseudodysenteriebazillen nicht nachgewiesen.
Knochenmark: keine Typhusbazillen.

Mikroskopischer Befund.

Von den verschiedensten Stellen des Dickdarms und Rektums wurden Stücke in Formol fixiert und Gefrier- wie Paraffinschnitte angelegt. Gefärbt wurden die Schnitte mit Hämatoxylin-Eosin und nach van Gieson, zur Darstellung feinerer Strukturen nach Heidenhain. Außerdem wurden zu speziellen Zwecken Eisenreaktionen, Fettfärbungen, Gramfärbungen und die Oxydasereaktion ausgeführt.

Ich bringe zunächst die histologischen Befunde, deren Erklärung und Zusammenfassung weiter unten gegeben werden wird.

1. Makroskopisch intakte Schleimhaut zwischen den Geschwüren.

Die Schleimhaut ist an der Oberfläche durch Fäulnisvorgänge verändert, das Epithel größtenteils abgestoßen. An einzelnen Schnitten ließen sich aber die histopathologischen Veränderungen in der Mukosa noch gut verfolgen. Im Lumen der Drüsen finden sich, wie Fig. 1 zeigt, relativ häufig Zellen von etwa eirunder Form

und erheblicher Größe, die unzweifelhaft sofort als Balantidien zu erkennen sind. — Auf eine morphologische Beschreibung des Balantidium coli (Malmsten) kann ich wohl im Hinblick auf die zahlreichen eingehenden Darstellungen desselben verzichten. — Bemerken möchte ich nur, daß die Cilien im Schnitt besonders gut nach der Methode von van Gieson darstellbar sind. Stellenweise liegen mehrere Infusorien in einem Drüsenlumen; dann ist dieses erweitert, die Epithelien sind abgeflacht und längsgestellt, ihre Färbbarkeit teilweise herabgesetzt. Gleichzeitig finden sich im Drüsenlumen neben abgeschilferten Epithelien mehr oder minder zahlreiche Leukozyten. Sie lassen sich als solche durch die Oxydasereaktion gut charakterisieren. Einzelne Tiere sind bereits in das Zwischengewebe eingedrungen. In ihrer Umgebung ist eine deutliche, zunächst nicht sehr reichliche Ansammlung von Leukozyten und Lymphozyten festzustellen, die bei weiterem Vordringen der Tiere dichter wird. Eine größere Anzahl von Balantidien ist an der Grenze der Mukosa und Muscularis mucosae vorhanden. Hier findet sich ein direkter Wall leuko- und lympho-

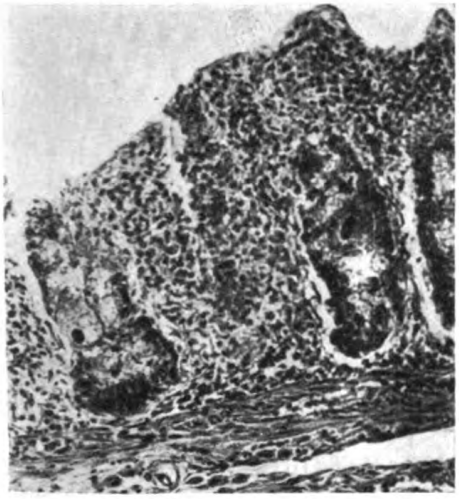


Fig. 1.

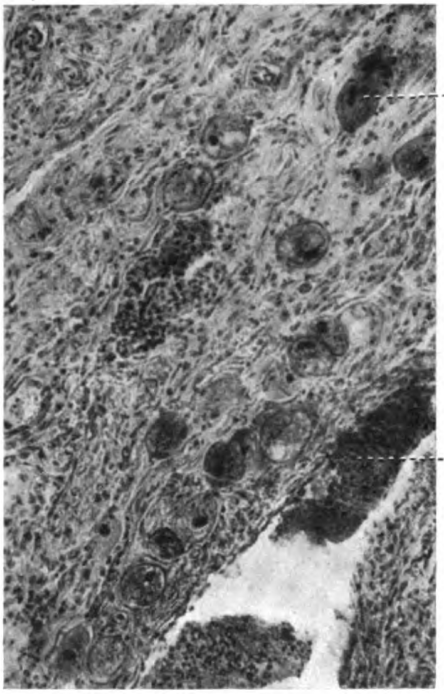


Fig. 2.

Fig. 1. Balantidium coli im Lumen von Schleimhautdrüsen des Dickdarms. 64jähr. ♀. Mikrophotogramm: Zeiß, Ok. 4, Obj. 16 mm.

Fig. 2. Balantidium coli in der Submucosa des Darms sich ausbreitend. *T* Bal. coli in Teilung, *th. G.* thrombosiertes Gefäß. Mikrophot. Zeiß, Obj. 16 mm, Ok. 2.

zytärer Elemente. In die vorhandenen Solitärfollikel sind vereinzelte Tiere eingedrungen; das lymphatische Gewebe ist in ihrer Umgebung eitrig eingeschmolzen, einige Balantidien bereits in der Nähe der Follikel in der Submukosa festzustellen. Eine histiogene Reaktion der Follikel, bestehend in Schwellung und Wucherung der Sinusendothelien, wie sie beim Colotyphus beobachtet wird, konnte nirgends bemerkt werden. Bei der Sudanfärbung finden sich im Plasma der Protozoen zahlreiche phagozytierte Fettkörnchen und Zelltrümmer. Von den übrigen Darmschichten erscheint die Submukosa aufgelockert, mäßig verdickt, stellenweise geringgradig infiltriert, ihre Gefäße hyperämisch. Längs- und Ringmuskelschicht zeigen im wesentlichen das normale Bild.

2. Kleinere flache Ulzera.

Die Mukosa ist an einzelnen Stellen völlig nekrotisch, im Hämatoxylinpräparat von braunem Farbton, eine Kernfärbung nicht mehr vorhanden. Andere in ihrer Form noch erhaltene Zellen zeigen Karyorhexis und Karyolysis. In der Umgebung der nekrotischen Partien findet sich eine starke Ansammlung von Leuko- und Lymphozyten, zwischen denen auch zahlreiche Plasmazellen vorhanden sind.

In den Nekrosen selbst sind neben abgestorbenen Tieren und Resten derselben (besonders Kernen) auch zahlreiche intakte Balantidien zu finden. Andere Individuen zeigen Absterbeerscheinungen, ihr Plasma ist aufgequollen, zum Teil von vakuoliger Beschaffenheit, die Konturen verwaschen. Die Mehrzahl der Balantidien findet sich außerhalb der Geschwüre und dringt entlang dem Faserverlauf der Submukosa, die stark aufgelockert ist, in diese ein. In der Umgebung der Tiere, die stellenweise reihenförmig hintereinander liegen (Fig. 2), findet sich fast stets eine deutliche Infiltration, hier vorwiegend aus Lymphozyten, sowie Plasmazellen bestehend. Die Blutgefäße der Submukosa sind stark erweitert und hyperämisch, einzelne thrombosiert; kleinere Blutungen öfter vorhanden. Fast in jedem Schnitt sind Tiere zu beobachten, die sich in Teilung befinden, die durch einfache Zweiteilung erfolgt. Auch im Lumen der Blut- und Lymphgefäße finden sich Balantidien. Im

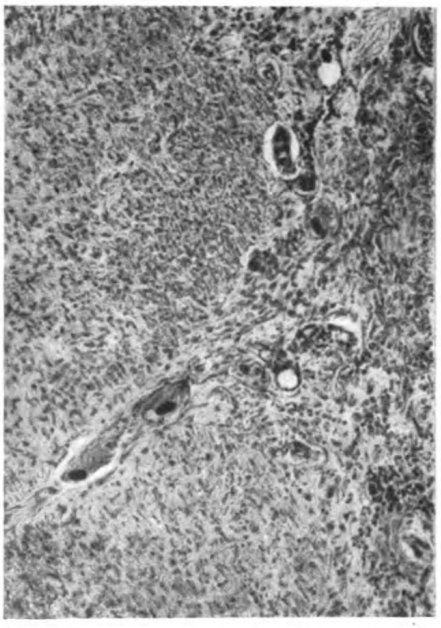


Fig. 3.

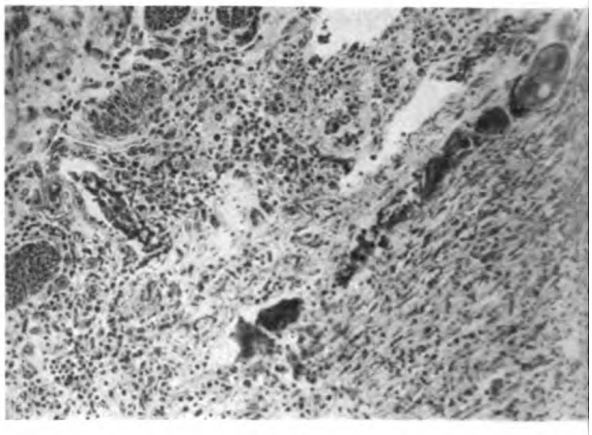


Fig. 4.

Fig. 4. Balantidium coli nach Durchbrechu der Längsmuskulatur in der Subserosa sich ausbreiten Mikrophotogr. Zeiß, Obj. 16 mm, Ok. 2.

Fig. 3. Balantidium coli in die Ringmusk schicht des Darms eindringend. Mikrophotogr. Ze Obj. 16 mm, Ok. 2.

Plasma der Tiere lassen sich phagozytierte rote und weiße Blutkörperchen, sowie Fettkörnchen nachweisen. Die Muskelschichten des Darms sind gleichfalls infiltriert.

3. Tiefere Ulzera.

Die Mukosa ist völlig abgestoßen, die Submukosa auf weite Strecken hin nekrotisch. An der Oberfläche der Nekrosen finden sich verschiedentlich Bakterienhaufen, die jedoch nirgends eine Beziehung zu den histologischen Veränderungen erkennen lassen. In den nekrotischen Partien selbst sind keine intakten Balantidien sichtbar. Der größte Teil derselben ist in die Muskelschicht eingedrungen (Fig. 3), und hier in und entlang der Lymphspalten gleichfalls in Reihen hintereinander liegend anzutreffen. Die Muskulatur selbst ist diffus infiltriert und zeigt in weiteren Stadien allenthalben eine Herabsetzung der Tingierbarkeit ihrer Zellen. Bei der Sudanfärbung erweisen sich diese fast sämtlich fettig degeneriert; an ausgedehnten Stellen ist eine Kern- und Plasmafärbung nicht mehr zu erzielen. Nach Durchbrechung der Muskelschichten sind die Tiere an verschiedenen Stellen in der ebenfalls hochgradig infiltrierten und hyperämischen Subserosa zu finden (Fig. 4).

Danach durfte die histologische Diagnose Colitis ulcerosa et necroticans durch Balantidium coli gestellt werden.

Ueberblicke ich die geschilderten anatomischen Befunde und ver-

suche ich diese mit den klinischen in Einklang zu bringen, so ergibt sich die interessante Tatsache, daß die Balantidiencolitis sich als primäre Erkrankung auffassen läßt. Dafür spricht einmal klinisch das lange Bestehen der Durchfälle. Anatomisch sind die enorme Ausdehnung der geschwürigen Prozesse, ihr Fortschreiten bis zu den Muskelschichten und der Serosa des Darms und die an einigen Stellen erfolgte Perforation der Geschwüre beweisend für längeres Bestehen der Balantidiencolitis. Die Abdeckung der Perforationsstellen durch das Netz verhinderte eine Peritonitis, die in einem von Woit mitgeteilten Falle den Exitus herbeigeführt hatte.

Daß der Ileotyphus sekundär entstanden ist, läßt sich gleichfalls klinisch wie anatomisch wahrscheinlich machen.

Die Roseolen, die bekanntlich gegen Ende der ersten oder im Anfang der zweiten Krankheitswoche auftreten, wurden zuerst am 2. Sept. (s. Krankengeschichte) beobachtet; das entspräche einem Beginne der Erkrankung zu einem Zeitpunkt (etwa am 26.—27. Aug.), an dem die schleimig-blutigen Durchfälle schon bestanden. Auch die anatomischen Veränderungen des Ileus passen zu einem Stadium, wie es in der 2. Krankheitswoche beobachtet wird. Des weiteren ist der Milzbefund sehr charakteristisch für einen Typhus abdominalis in der ersten Woche der Erkrankung. Das Organ ist nur leicht vergrößert. Eine stärkere Milzvergrößerung tritt jedoch erst in der dritten Krankheitswoche auf.

Möglicherweise ist der Ausbruch des typhösen Prozesses so zu erklären, daß die Pat. zunächst Bazillenträgerin war (Infektion bei der früheren Epidemie), und später die Typhusbazillen infolge der Auswirkung der bestehenden Balantidiencolitis auf den Dünndarm einen günstigen Boden zur Ansiedlung im Ileum vorfanden.

Schließlich sei noch auf das in der Krankengeschichte mitgeteilte Blutbild der Pat. hingewiesen. Der Mangel an Eosinophilen ist bereits von Ehrenroth als konstanter Befund bei Balantidienruhr hervorgehoben worden. Das Blutbild, welches er in einem seiner Fälle mitteilt, gleicht fast völlig dem oben erwähnten.

II.

Die pathogene Bedeutung des Balantidium coli ist recht umstritten. Der Befund von Balantidien im Stuhl sonst völlig darmgesunder Individuen veranlaßte Waldenström und Henschen, ihnen jede pathogene Wirkung abzusprechen und sie als harmlose „Kommensalen“ des Darms zu erklären. Doch ließen weitere Beobachtungen, insbesondere die eingangs erwähnten eingehenden histologischen Untersuchungen keinen Zweifel mehr an der pathogenen Bedeutung der Balantidien aufkommen. Christeller hat histologisch als beweisend für die Pathogenität der genannten Protozoen 3 Bedingungen gefordert: Eindringen in die Darmwand, Nachweis enger lokaler Beziehungen der Parasiten zu den dortigen histologischen Veränderungen und Vermehrung der Tiere im Gewebe des Wirts. Alle drei sind, wie aus dem histologischen Befund zu ersehen, auch im vorliegenden Falle erfüllt. Dabei halte ich als wirklich ausschlaggebend für die pathogene Rolle der Balantidien die Feststellung eines reaktiv entzündlichen Vorganges, wie ich ihn meistens in der Umgebung der Tiere, in welcher Schicht des Darms sie auch angetroffen wurden, erwähnt habe.

Größere Meinungsverschiedenheiten bestehen über die Art des Eindringens der Tiere in den Darm, wie über die Möglichkeit ihrer pathogenen Wirkung. Wir wissen aber überhaupt sehr wenig über die Biologie des Balantidium coli.

Ich glaube, an Hand einzelner Beobachtungen und Befunde aus der Literatur, sowie eigener an anderer Stelle ausgeführter Untersuchungen an Wimperinfusorien einige Bemerkungen bezüglich der Biologie des Balantidium coli anschließen zu dürfen. Es war mir nicht möglich, und ist noch nicht unternommen worden, lebende Tiere eingehender und systematisch zu untersuchen. Die Hauptschwierigkeit lag bisher darin, daß es nicht gelang, die Balantidien lange genug außerhalb des Darms am Leben zu erhalten. Die erste Bedingung ist hierfür (und dies gilt auch für die in den Darm gelangten Tiere) die mit dem Leben derselben vereinbare Beschaffenheit des umgebenden Mediums. In der Literatur finden sich im Zusammenhang hiermit einige Beobachtungen, die allerdings von anderen, hauptsächlich therapeutischen Gesichstpunkten aus angestellt wurden. So fanden Waldenström und Henschen, daß eine Lösung von Acidum aceticum schon in einer Verdünnung von 1:1250 auf die Balantidien augenblicklich tödlich wirkt. Die gleichen Verfasser untersuchten auch die Wirkung des Magensaftes auf die Tiere; sämtliche Infusorien starben fast augenblicklich ab. Grüßer berichtet das gleiche von einer 1:10000-proz. Lösung von Pyoctaninum coeruleum. Etwas eingehendere Untersuchungen hat Ortmann angestellt, und auch bei Anwendung höher konzentrierter Alkalilösungen eine Abtötung der Tiere erzielt. Ueber die Wirkung einer Lösung von Chinin. sulf. 1:2000 schreibt er: „Die Bewegung wird zunächst eine viel schnellere, unruhigere; nach 5 Min. Ruhe, nach 10 Min. erste Todeserscheinungen, Kugelform der Tiere.“ Des weiteren sind mit gleichen Resultaten Versuche mit Lösungen fast sämtlicher organischer und anorganischer Säuren angestellt worden.

Aus diesen Befunden geht hervor, daß das Balantidium coli gegen Säuren jeder Art, auch in starker Verdünnung, außerordentlich empfindlich ist; desgleichen wirkt Alkali in stärkerer Konzentration tödlich. Es läßt sich demnach betreffs der chemischen Beschaffenheit des umgebenden Mediums sagen, daß mit größter Wahrscheinlichkeit ein neutrales bis mäßig alkalisches Medium als optimal für die Lebensmöglichkeit der Balantidien anzusprechen ist. In der Tat ist übereinstimmend die Reaktion des Stuhls derartiger Kranker, in dem lebende Tiere beobachtet werden konnten, als alkalisch angegeben worden.

Wie ist nach unseren physiologischen Kenntnissen die chemische Reaktion des Dickdarms, auf den allein es ankommt?

Die Reaktion des normalen Dickdarminhalts ist eine vorwiegend saure! Die saure Reaktion wird durch die im Colon vorgehenden Fäulnis- und Gärungsprozesse bedingt.

Ein normal, d. h. vorwiegend sauer reagierender Dickdarm kann also entsprechend den vorherigen Erörterungen niemals einen mit den Lebensbedingungen der Balantidien zu vereinbarenden Aufenthaltsort abgeben.

Dabei ist zu bemerken, daß die Balantidien als parasitär lebende Protozoen wahrscheinlich einer großen Anpassungsfähigkeit an das umgebende Medium fähig sind. Trotzdem glaube ich nicht, daß es bei an-

haltender saurer Reaktion des Dickdarms zu einer nennenswerten Vermehrung der Tiere kommt, die überhaupt erst zu einer pathogenen Wirkung derselben führt. Die Tiere wechseln ihren Aufenthaltsort in dem Bestreben, für sie günstigere Verhältnisse zu erreichen, und werden dabei mit dem Stuhl ausgeschieden.

So erklärt sich der Befund von Balantidien im Stuhl sonst gesunder Individuen, der Waldenström und Henschen zu irriger Vorstellung über die pathogene Bedeutung dieser Protozoen geführt hat. Solche Personen könnte man wohl mit Recht als „Balantidienträger" bezeichnen.

Die, wie erwähnt, vorwiegend saure Reaktion des Dickdarms kann aber unter Umständen nach der alkalischen Seite umschlagen! Die Ursachen hierfür sind verschiedener Art: Zunächst kann jedes Moment, das ein schnelleres Fortbewegen des Darminhalts begünstigt, ein solches Umschlagen bewirken, indem stärkere Fäulnisprozesse verhindert werden. Einmal kann eine Reizung der motorischen Darmnerven eine vermehrte Peristaltik bewirken, andererseits verursacht eine gesteigerte Schleimabsonderung ein rascheres Durchgleiten der Fäzes durch den Darm. Aber auch die Beschaffenheit der aufgenommenen Nahrung kann bestimmend auf die chemische Reaktion des Dickdarms einwirken. So schlägt die saure Reaktion bei Bildung reichlichen Ammoniaks in eine neutrale oder alkalische um, das gleiche tritt bei reichlicher Eiweiß- und Fettzufuhr ein (Kalkseifenbildung!).

Hieraus ist zu schließen, daß nicht nur durch katarrhalische Zustände des Dickdarms, wie sie die Mehrzahl der Autoren annehmen, günstige Bedingungen für die Ansiedlung der Balantidien gegeben sind, sondern daß auch bei bestimmter, vorwiegend einseitiger Ernährung ein Umschlagen der sauren Reaktion in eine neutrale oder alkalische erfolgen und die nunmehr günstige Beschaffenheit des umgebenden Mediums eine Ansiedlung und Vermehrung der Tiere gestatten kann.

Der Infektionsmodus durch Balantidium coli ist bisher noch nicht geklärt. Die Identität des menschlichen Balantidiums mit dem im Schweinedarm schmarotzenden macht es wahrscheinlich, daß das Schwein als der normale Wirt des Infusoriums anzusprechen ist. Klinisch ist besonders von Sievers und Mitter bei der Mehrzahl der Patienten anamnestisch irgendeine Beschäftigung mit Schweinen nachgewiesen worden. Das Aufblasen von Schweinedärmen mit dem Mund ist nach Dehio in Rußland eine häufige Uebertragungsart der Balantidien. Die Tiere gelangen höchstwahrscheinlich in enzystiertem Zustand in den Darmtraktus des Menschen. Ich nehme an, daß unter Einwirkung der eigentlichen Verdauungssäfte die Zystenwand gelöst wird, und die Tiere sich dann im Dickdarm unter Umständen weiterentwickeln.

Bevor ich auf die durch die Parasiten erzeugten Veränderungen in der Darmwand selbst eingehe, seien noch einige für das Verständnis derselben notwendige Tatsachen angeführt. Die Fortbewegung der Tiere erfolgt durch das Schlagen der Cilien. Entsprechend ihrer Verteilung am Körper der Balantidien ist die Bewegung eine um die Längsachse rotierende. Gleichzeitig ist das Tier durch die Myofibrillen imstande, seine äußere Form stark zu verändern und sich durch verhältnismäßig enge Spalten durchzuschieben. Die Nahrung besteht aus denjenigen morphologischen Elementen, die durch das Schlagen der

Mundwimpern in den Pharynx der Tiere gelangen. Nicht assimilierbare Bestandteile werden, wie auch bei anderen Wimperinfusorien, durch den After wieder ausgeschieden. Demnach finden sich im Plasma der Balantidien, wie bereits erwähnt, Fettkörnchen (Sievers), Bakterien (Christeller), rote und weiße Blutkörperchen und sonstige Zellen (Sievers, Christeller). Es ist selbstverständlich, daß die phagozytierende Tätigkeit der Tiere von großer Bedeutung in Hinsicht auf ihre krankheiterzeugende Eigenschaft sein muß. Wichtig ist die von Gläßner festgestellte Tatsache, daß in den Balantidien kein proteolytisches, wohl aber ein diastatisches Ferment vorkommt; ferner, daß die Tiere einen stark hämolytisch wirkenden Körper produzieren. Auf dessen Wirkung führt Gläßner die bei den Patienten bestehende Anämie zurück. Es ist nach ihm nicht nötig, daß gleichzeitig stärkere Darmblutungen bestehen.

Mikroskopisch finden sich die Balantidien, wie Dopter angibt, nur äußerst selten in der Mukosa des Dickdarms. Ich selbst konnte sie ziemlich zahlreich in den Drüsenlumina und dem Schleimhautparenchym feststellen. Christeller fand bei Schimpansen nach unmittelbar post mortem erfolgter Eingießung von Formol in den Darmkanal eine große Menge von Tieren in der Schleimhaut. Ihr spärliches Vorhandensein in der Mukosa im histologischen Präparat dürfte wohl in der Hauptsache auf eingetretene postmortale Veränderungen zurückzuführen sein. Auch Temperaturschwankungen (Gläßner machte besonders auf die Empfindlichkeit der Balantidien gegen Kälte aufmerksam und empfahl therapeutisch Eisklysmen!) sind sicher von entscheidender Bedeutung. Die Tiere wandern höchstwahrscheinlich infolge der genannten Gründe aus den Krypten aus und sind bei der gewöhnlich erst beträchtliche Zeit post mortem möglichen Untersuchung nur noch spärlich in der Mukosa aufzufinden.

In dieser Tatsache ist auch der Grund dafür zu suchen, daß bei der menschlichen Balantidienruhr der Invasionsweg der Tiere und die histopathologischen Veränderungen bei ihrem Eindringen in die Submukosa noch nicht geklärt sind. Der Ansicht älterer Autoren, die neuerdings wieder von Jaffé vertreten wird, daß die Balantidien die Schleimhaut „auf dem kürzesten Wege durchwandern" und sich erst in der Submukosa ausbreiten, ist entgegenzuhalten, daß einer solchen einfachen Durchwanderung die Muscularis mucosae, bis zu der sie wohl denkbar wäre, zunächst eine Grenze setzen müßte. Diese Ansicht ist, was auch Christeller betont, schon von rein mechanischen Gesichtspunkten abzulehnen. Wie ich im histologischen Befund mitteilte, konnte ich einmal bei Anwesenheit von Balantidien in Schleimhautdrüsen eine Auswanderung von Leukozyten ins Drüsenlumen feststellen. Desgleichen war in der Nähe der Tiere, die bereits ins Zwischengewebe eingedrungen waren, eine deutliche Infiltration vorhanden; diese nimmt bei weiterem Vordringen derselben an Intensität zu, am stärksten ausgeprägt ist sie dann an der Grenze zur Muscularis mucosae, wo sich auch eitrige Einschmelzungen fanden. Gleichzeitig fanden sich Tiere, die in die solitären Darmfollikel eingewandert waren und dort eine zunächst gleiche Leukozytenansammlung mit nachfolgender eitriger Einschmelzung hervorgerufen hatten. Da die Follikel zum Teil in der Submukosa gelagert sind, ist auf diesem Wege ein Eindringen der Parasiten in dieselbe leicht möglich.

In der Literatur finden sich einige Angaben, aus denen zu entnehmen ist, daß derartige eitrige Einschmelzungen in den Follikeln auch von anderen Autoren bei der menschlichen Balantidiosis beobachtet wurden. So erwähnt Askanazy, daß kleinere Geschwüre „ganz den Eindruck machten, als gingen sie größtenteils von den Solitärfollikeln aus". Mitter berichtet bei einem Sektionsbefund: „Im Dickdarm kleine brandige Ulzerationen, von den Solitärfollikeln ausgehend." Christeller hat diesen Invasionsweg an seinem Schimpansenmaterial eindeutig in allen Stadien verfolgen können und glaubt, daß es überhaupt der einzig mögliche sei. Die Verhältnisse bei der menschlichen Balantidienruhr lassen jedoch noch andere Möglichkeiten der Einwanderung zu. Ich erwähnte, daß an der Grenze zur Submukosa eine größere Zahl von Balantidien sich vorfinden. Die Leukozytenansammlung hat dort ihren Höhepunkt erreicht, gelegentlich finden sich hier eitrige Einschmelzungen. Bei nachträglicher Einwanderung anderer Tiere und Weitergreifen der eitrigen Einschmelzung kann auch auf diesem Wege die Muscularis mucosae zerstört und ein Eindringen der Balantidien in die Submukosa ermöglicht werden (vgl. auch Solowjew).

Was die histopathologischen Veränderungen selbst anlangt, so sind dieselben nicht allein, wie Christeller es für die Balantidiosis der Schimpansen angibt, auf rein mechanische Faktoren und deren Auswirkung zurückzuführen, sondern zweifellos auch durch Exotoxine und Stoffwechselprodukte der Parasiten bedingt. Auf diese Momente sind nicht nur die reaktive Entzündung, sowie die eitrige Einschmelzung zurückzuführen, sondern auch die bei der menschlichen Balantidiosis sicher vorhandenen Nekrosen. Sie scheinen ein wesentliches Unterscheidungsmerkmal zwischen der menschlichen und der bei anthropoiden Affen vorkommenden Balantidienruhr, bei der Christeller niemals Nekrosen beobachtete, zu bilden. Gegenüber der Ansicht dieses Autors, daß die bei der menschlichen Balantidiosis stets angegebenen Nekrosen auf Beobachtungsfehlern beruhten oder postmortale Veränderungen wären, verweise ich auf die geschilderten nekrobiotischen Vorgänge in den Muskelschichten bei tiefergreifenden Ulzera und Eindringen der Tiere in die Muskulatur, die unmöglich als postmortale gedeutet werden können. Die Erklärung des Zustandekommens dieser Nekrosen ist stark umstritten. Wenn auch zuzugeben ist, daß an diesen Stellen intakte Balantidien verhältnismäßig spärlich vorhanden, dagegen zahlreiche abgestorbene Tiere sowie einzelne Zellkerne und Kerntrümmer sich vorfinden, so ist der Schluß, daß die Nekrosen durch Endotoxine abgestorbener Balantidien entstünden, wie es Jaffé annimmt, meiner Ansicht nach nicht zutreffend. Daß lebende Tiere in den nekrotischen Partien überhaupt fehlen, wie es ältere Autoren behaupten, ist schon von Rosenblath angezweifelt worden; auch ich habe gar nicht so selten zahlreiche, völlig intakte Tiere in denselben beobachten können. Die Nekrosen kommen nicht durch Wirkung von Endotoxinen abgestorbener Individuen zustande, sonst müßten sich auch in der Umgebung einzelner, isoliert abgestorbener Tiere, wie ich sie des öfteren beobachtete, Nekrosen nachweisen lassen; dies ist jedoch nicht der Fall. Vielmehr gehen die Tiere in den der Nekrobiose verfallenden Partien infolge der an diesen Stellen eintretenden Ueberhandnahme der eigenen Stoffwechselprodukte zugrunde, falls sie nicht imstande sind, rasch aus

ihnen herauszukommen. Ein ähnliches Absterben läßt sich aus denselben Gründen des öfteren in Protozoenkulturen bei schlechter Ventilation beobachten.

Die Nekrosen sind also lediglich als Produkte von Exotoxinen lebender Balantidien aufzufassen, wobei vielleicht auch der hämolytischen Wirkung derselben auf indirektem Wege eine Bedeutung zukommt. Daß dabei auch die durch das Absterben der Tiere freiwerdenden Endotoxine den Grad der Nekrose verstärken können, soll nicht in Abrede gestellt werden.

Die Ausbreitung der Parasiten in der Submukosa ist schon mehrfach eingehend beschrieben worden. Betont sei, daß ich so gut wie immer in der Umgebung der Tiere Infiltrationen sah, die hier vorwiegend aus Lymphozyten und Plasmazellen bestanden. Die Ausbreitung erfolgt entsprechend dem Faserverlauf der Submukosa in seitlicher Richtung, wodurch sich die überhängenden Ränder besonders größerer Ulzera erklären. Bei längerem Bestehen der menschlichen Balantidiencolitis scheint eine Einwanderung der Tiere in die Muskelschichten und die Serosa des Darms und damit ein Weitergreifen der Ulzera bis zu letzterer nicht selten vorzukommen. So erwähnen Schöppler und Solowjew, daß sie die Balantidien in allen Schichten der Darmwand angetroffen hätten. Woit konnte allerdings anatomisch in seinem Fall mit Perforation der Geschwüre und nachfolgender Peritonitis keine Balantidien nachweisen. Mir bot sich die Gelegenheit, auch diese Ausbreitungsstadien und ihre Auswirkung auf die Muskulatur genau verfolgen zu können.

Meine Ergebnisse kann ich dahin zusammenfassen, daß nebeneinander 2 Veränderungen des Darms gefunden wurden, von denen die eine, wie ich ausgeführt habe, nämlich die im Dickdarm lokalisierte, Folge einer Infektion mit Balantidium coli ist, während die im Dünndarm lokalisierte, auf den lymphatischen Apparat beschränkte Erkrankung sowohl anatomisch wie nach dem Krankheitsverlauf, wie nach der bakteriologischen und serologischen Untersuchung zweifellos einen Eberthschen Typhus darstellt. Für die Dickdarmveränderungen fehlen die anatomischen Kriterien und Merkmale eines Typhus. Der Vergleich der anatomischen und klinischen Befunde macht es in höchstem Grade wahrscheinlich, daß die Balantidiencolitis schon vor Ausbruch des Ileotyphus bestanden hat.

Weder dem klinischen Verlauf nach, noch nach den anatomischen Veränderungen ist die Annahme ausreichend begründet, daß die Typhusinfektion den tödlichen Ausgang herbeigeführt hat. Klinisch beherrschten das Bild, vom Fieber abgesehen, die schleimig-blutigen Diarrhöen. Man wird sich deswegen die Frage vorlegen müssen, ob die Kranke nicht an der Balantidiencolitis gestorben ist.

Im Dickdarm des Menschen wird das Balantidium coli nur dann pathogen, wenn besondere Bedingungen bestehen, nämlich eine Verschiebung der normal vorwiegend sauren Reaktion des Inhalts zur alkalischen.

Eine alkalische Reaktion des Dickdarms kann sowohl durch katarrhalische Zustände wie durch bestimmte, besonders einseitige Ernährungsweise bedingt werden.

Die durch die Balantidien hervorgerufene ulzerös-nekrotisierende Colitis ist meines Erachtens eine Folge exotoxischer Wirkungen der Infusorien.

Die von Christeller bei Anthropoiden beschriebene Balantidiosis scheint sich von der des Menschen durch die ausbleibenden Nekrosen zu unterscheiden.

Die Einwanderung der Protozoen in die Submukosa erfolgt nach vorangegangener eitriger Einschmelzung der Muscularis mucosae zum Teil direkt, zum Teil auf dem Wege durch die Solitärfollikel.

Die makroskopischen Veränderungen des Dickdarms bei der Balantidienruhr sollen nach Löhleins Erfahrungen denen bei der Colitis ulcerosa durch Amöben gleichen.

Literaturangabe.

Askanazy, Die pathogene Bedeutung des Balantidium coli. (Wien. med. Wochenschr. 53. 1903.) — Ders., Ueber die pathogene Bedeutung des Balantidium coli. (Verhandl. d. Dtsch. Path. Gesellsch. 5. 1902.) — Behrenroth, Chronische Colitis durch Bal. coli. (Dtsch. med. Wochenschr. 1913.) — Bensen, Die Darmprotozoen des Menschen. (Arch. f. Schiffs- u. Tropenhyg. 1908.) — Biedermann, Physiologie des Stoffwechsels. (Wintersteins Handb. d. vergl. Physiol. Jena 1911.) — Bode, Bal. coli hominis. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 89.) — Brandt, Ueber Balantidienenteritiden und ihre Therapie. (Dtsch. med. Wochenschrift 23. Nr. 46) — Brønner, Ueber Balantidienenteritis und ihre Behandlung. (Münch. med. Wochenschr. 1919. Nr. 22.) — Brosius u. Bishop, Diseases due to intestinal parasites in Columbia and their treatment. (Journ. Americ. Med. Assoc. Vol. 74. 1920; ref. Centralbl. f. allg. Pathol. 1920.) — Collmann, Fünf Fälle von Bal. coli im Darm des Menschen. [Inaug.-Diss.] Königsberg 1900. — Christeller, Ueber Balantidienruhr bei Schimpansen des Berl. Zool. Gartens. (Virch. Arch. 238.) — Danisch, Ueber Reizbiologie und Reizempfindlichkeit von Vorticella nebulif. (Zeitschr. f. allg. Physiol. 1920.) — Doflein, Lehrbuch der Protozoenkunde. 3. Aufl. — Ehrenroth, Zur Frage der Pathogenität des Bal. coli. (Zeitschr. f. klin. Med. Bd. 49. 1913.) — Forrai, Balantidiencolitis. Centralblatt f. Bakt. Abt I. Orig. Bd. 29.) — Gläßner, Ueber Balantidienenteritis. (Ebenda. Abt. I. Orig. Bd. 47. 1908.) — Jaffe, Zur Pathologie der Balantidiencolitis. (Centralbl. f. allg. Pathol. Bd. 30. Nr. 7.) — Janowski, Ein Fall von Bal. coli im Stuhl, nebst einigen Bemerkungen über den Einfluß dieses Parasiten auf Störungen im Darmkanal. (Zeitschr. f. klin. Med. Bd. 32. 1897.) — Jennings, Das Verhalten der niederen Organismen. Leipzig 1920. — Koßler, Ein Fall von Balantidiencolitis. (Wien. med. Wochenschr. 56. 1906. — Klimenko, Beitrag zur Pathologie des Bal. coli. (Zieglers Beitr. Bd. 33. 1903.) — Koslowski, Zur Lehre von den Infusorien, die als Parasiten im Verdauungskanal des Menschen vorkommen. (Arch. f. Verdauungskrankh. 1905.) — Kruse, Der gegenwärtige Stand unserer Kenntnis von den parasitären Protozoen. (Hyg. Rundsch. 30.) — Landois, Lehrbuch der Physiologie des Menschen. 1903. — Leuckart, Paramaecium coli. (Wiegmanns Arch. 1861.) — Löhlein, Zur pathologischen Anatomie der Ruhr. (Med. Klin. 1917. Nr. 30.) — Ders., Ruhr — Colitis balantidica. (Handb. d. ärztl. Erfahr. im Weltkrieg. Leipzig 1920/21. Bd. 8. — Malmsten, Infusorien als Intestinaltiere beim Menschen. (Virch. Arch. 1857.) — Mitter, Beiträge zur Kenntnis des Bal. coli. [Inaug.-Diss.] Kiel 1891. — Nagel, Ueber einen Fall von Infusorienenteritis. (Münch. med. Wochenschr. 1905. 44.) — zur Nilden, Bal. coli bei einem Fall von Ca. recti. (Centralbl. f. klin. Med. 1881.) — Ortmann, Ueber Bal. coli. (Berl. klin. Wochenschr. 1891. Nr. 33.) — Prowazek, Zur Kenntnis der Balantidiosis. (Arch. f. Schiffs- u. Tropenhyg. 17. Beih.) — Rheindorf, Ciliatendysenterie. (Berl. klin. Wochenschr. 1907. Nr. 49.) — Roos, Ueber Infusoriendiarrhöe. (Dtsch. Arch. f. klin. Med. 1893.) — Rosenblath, Ein Fall von Balantidienerkrankung. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 85. 1920.) — Shegalow, Ein Fall von Bal. coli bei einem 5jähr. Mädchen. (Jahrb. f. Kinderheilkunde 1899. Nr. 49.) — Sievers, Bal. coli, Megastomum entericum u. Bothriocephalus latus bei einem Individuum. (Centralbl. f. klin. Med. 1896.) — Ders., Ueber Bal. coli im menschlichen Darmkanal und dessen Vorkommen in Schweden und Finnland. (Arch. f. Verdauungskrankh. 1899.) — Schöppler, Ueber einen tödlich verlaufenen Fall von Bal. colitis. (Dtsch. militärärztl. Zeitschr. 1917. H. 3 u. 4, ref. Centralbl. f. Path. 28. 1917.) — Solowjew, Das Bal. coli als Erreger chronischer Durchfälle. (Centralbl. f. Bakt. Bd. 29.) — Stieda, Ueber das Vorkommen von Paramaecium coli beim Menschen. (Virch. Arch.) — Strasburger, Demonstration eines Kranken mit Bal. coli. (Dtsch. med. Wochenschr. 1912. Nr. 36.) — Woit, Drei neue Fälle von Bal. coli im menschlichen Darm. (Dtsch. Arch. f. klin. Med. Bd. 60. 1898.)

Nachdruck verboten.

Der Zweck der Katalase bei den Bakterien und ihre Bewertung als Ferment.

[Aus dem Hygienischen Institut zu Bremen. Oberleitung: Obermedizinalrat Prof. Dr. Tjaden. (Abteilungsvorsteher: Prof. Dr. Arnold Meyer.)]

Von Dr. med. **Franz Schlunk,** Medizinalpraktikant.

Bislang sind zur Begründung der Ursache der Katalase bei den Mikroorganismen nach Einsicht in die zur Verfügung stehende Literatur keine ausgearbeiteten Untersuchungsmethoden veröffentlicht. Die eine oder andere angegebene Methode kann natürlich noch weiter ausgebaut werden. Die Ergebnisse können zum Teil nur approximativ gewertet werden. Immerhin erlaubt die Fülle der offensichtlich immer wiederkehrenden Erscheinungen, Thesen aufzustellen, an deren Beweiskraft nicht gezweifelt werden kann. Mit wissenschaftlicher Gründlichkeit und Objektivität wurde die große Materie behandelt und jene Hypothese bestätigt gefunden, die zu Anfang dieses Jahrhunderts Loew zum ersten Male von der Ursache der Katalasebildung aufstellte, und die nach ihm wegen Mangel an Beweisen bald theoretisch anerkannt, bald abgelehnt wurde. Daß H_2O_2 durch lebendes Gewebe in $H_2O + O$ zerlegt wird, ist bereits seit Schönbein (1863) bekannt. Von Loew aber stammt der Name „Katalase", und von ihm wurde eine Spezifizierung dieses Stoffes in α- und β-Katalase durchgeführt. α soll in Wasser unlöslich und ein Gemisch von Albumose und Nukleoproteid sein, während β sich in Wasser löst und eine Albumose ist. Loews Ansicht über den Zweck dieser Katalasen war, daß bei Oxydationen von labilen, organischen Stoffen H_2O_2 entstünde, das für lebendes Protoplasma Gift sei und daher ehestens durch die Katalase in $H_2O + O$ zerlegt würde. Koning beschränkte sich in seinen Untersuchungen über Katalasebildung in der Milch auf die Aussage, daß die Bakterien bei ihrem Stoffwechsel die Katalase produzierten. Die Frage, wozu dies nützlich wäre, ließ er unbeantwortet. Jörns prägte den Ausdruck „Ekto"- und „Endo"-Katalase. Die Ektokatalase wird von den Bakterien in ihre Umgebung abgegeben, die Endokatalase wird erst nach Zerstörung der Bakterienleiber frei. In Oppenheimers systematischem Werk über Fermente wird die Katalase in die Fermente eingereiht, um bis heute zu ihnen gezählt zu werden, trotzdem sich hin und wieder Bedenken gegen ihre Fermentnatur geltend gemacht haben.

Um die Erörterung über den vorliegenden Stoff fruchtbringend zu gestalten, ist es notwendig, sich so einzustellen, daß der Kern aller Gedankengänge das biologische Gesetz ist, daß keine Lebensentäußerung von Zellen, und seien sie noch so primitiv in ihren morphologischen und funktionellen Auswertungen, zwecklos ist. Diese Worte klingen vielleicht überflüssig, und man wird geneigt sein, zu entgegnen, daß die großen Forschungsfragen der Physiologie und Biologie nie anders als unter dieser Einstellung gelöst worden sind. Gewiß sind Probleme

entwirrt worden, die unbefangen betrachtet und auf Grund der unbefangenen, jedoch scharfen Beobachtung logisch auseinander entwickelt wurden. Es muß aber zugegeben werden, daß vieles nicht ergründet wurde, weil es aus zu begrenztem Gesichtswinkel und zu spezialistisch beschaut wurde. Der letzte Zweck in den funktionellen Auswirkungen lebender Zellen ist: Fristung des Lebensdaseins und Fortpflanzung unter möglichst günstigen Bedingungen. Darum wird dort Kraft und Kampf eingesetzt, wo die Umwelt die Entfaltung der Einzelzelle und die Entwicklung der Nachkommenschaft zu vernichten droht. In diesen Rahmen fügen sich die Mikroorganismen ein. In der gewaltigen Musik, welche uns das Leben aufspielt, klingen in feiner Abstimmung jene Töne heraus, die das Heer kleinster und einfachster Organismen hervorbringt. Bald scheint dieser Klang ein harmonisches Aufgehen in den verschlungenen Melodien des ganzen großen Werkes zu sein, in welchem die höher organisierten Lebewesen tonangebend sind. Bald aber auch sind die Mikrozyten die Meister der Musik, und alles andere muß sich unter ihre elementare Energie stellen. Dann kommt es zu einer Kraftmessung zwischen Niederem und Höherem, zu einem Kampf auf Leben und Sterben. Wer die stärksten und ausdauerndsten Waffen hat, geht als Sieger aus diesem Ringen hervor. Der Eine baut sein Dasein auf der Zersetzung des Anderen auf. Das ist ungeschriebenes Naturrecht. Fassen wir so, als Kämpfen um das Bestehen von Arten und Rassen, jegliches Geschehen und Wirken der lebenden Natur auf, dann müssen wir auch zur Klarheit über den Zweck jenes Stoffes gelangen, der den Bakterien das Vermögen gibt, H_2O_2 in H_2O+O zu verwandeln.

Obwohl es vielleicht dem Aufbau der Gedanken entspräche, daß ich mich zunächst über die Art des Stoffes, der die Katalase hervorbringt, auslasse, möchte ich doch anfangs über den Zweck der eigenartigen Erscheinung berichten.

Die Versuchsanordnung war folgendermaßen: Aus Institutskulturen wurden Abstriche auf Agarplatten gemacht, die bei einer Temperatur von 37° 24 Std. lang bebrütet wurden. Dann wurden auf Vorschlag von Knorr, dessen Arbeit die 1. Anregung zu den Untersuchungen gab, 5 cm lange und etwa 2 mm dicke Glasröhrchen in ausgebohrte Löcher eines Holzpflockes hineingestellt. Mit einer fein ausgezogenen Glaspipette wurde 3proz. H_2O_2 in die Röhrchen bis zur Hälfte hineingefüllt. Weiteres Auffüllen ist wegen des manchmal starken Aufschäumens nicht zweckmäßig. Mit dünnen Glasdrähten wurde Kultur von der Agarplatte abgestrichen und in H_2O_2 eingetaucht. Kleinste Mengen der Kultur genügen. Ein Hin- und Herbewegen des Drahtes in den Röhrchen muß tunlichst vermieden werden, weil es sonst zur Abspaltung von O und zur Bildung von Blasen kommt, selbst wenn der zu prüfende Stamm keine Katalase erzeugt; überhaupt muß prinzipiell jedes Schütteln des H_2O_2 unterbleiben. Aus der nachfolgenden Tabelle ist die Katalasereaktion ersichtlich.

Es bedeutet: ++++ = **sehr starke Schaumbildung,**
+++ = **starke Schaumbildung,**
++ = **Aufsteigen von zahlreichen feinen Bläschen,**
\+ = „ „ **wenigen feinen Bläschen,**
— = **negativ.**

Als weiteres gutes Merkmal sei angegeben, daß bei Katalasebildnern die durch die eingebrachten Bakterien verursachte Trübung

von H_2O_2 nach unten scharf abschneidet, während bei den übrigen sich die Trübung korkzieherartig in die Tiefe senkt. Diese Erscheinung beruht darauf, daß durch das Emporsteigen der vielen Blasen die Bakterienwolke mechanisch oben gehalten wird; fehlen die Blasen, so steht einer Senkung der Trübung nichts im Wege (Tabelle I).

Tabelle I.

4	Stämme	Bac. pyocyaneus	++++	1	Stamm	Staphyl. citreus	++++
4	„	Ruhr Flexner	+++	2	Stämme	Bac. prodigiosus	++++
4	„	„ Y	+++	6	„	Farbstoffbildner (1 Sarzine, 1 Stäbchen, 4 Luftkokken)	++++
6	„	Paratyphus B	+++				
6	„	Bact. Coli	+++	2	„	Milzbrand	+++
1	Stamm	Bac. lactis aërogenes	++	4	„	Mäusetyphus	+++
2	Stämme	Bac. ent. Gärtner	+++	3	„	Shiga-Kruse	—
2	„	Diphtherie	+++	1	Stamm	Faec. alcaligenes	—
2	„	Pseudodiphtherie	+++	8	Stämme	Typhus	—
1	Stamm	Staphyl. aureus	++++	6	„	Paratyphus A	—
1	„	„ albus	++++	1	Stamm	Kälberruhr	—

Aus der Tabelle ersehen wir, daß 21 artverschiedene Bakterienstämme katalase-positiv, 5 negativ sind. Hieraus ist abzuleiten, daß die Katalase unter den Bakterien nicht allgemein verbreitet ist. Auf differentialdiagnostische Auswertung dieser Erscheinung haben Jorns, Knorr u. a. bereits hingewiesen. Aus den 69 auf Katalase geprüften Stämmen habe ich für weitere Forschungen das Material entnommen, um Resultate auf sicherer und einwandfreier Grundlage zu erzielen.

An 26 artverschiedenen Bakterienstämmen wurde die Katalasereaktion nachgeprüft. Die Resultate, die hierbei gefunden wurden, weichen in manchen Punkten von denen früherer Untersucher ab. An den Stämmen von Shiga-Kruse, Typhus, Paratyphus A, Kälberruhr, Alkaligenes fand sich keine mit den Augen wahrnehmbare Reaktion. Es ergab die genaue quantitative Messung des bei Einwirkung der Katalase entstehenden Sauerstoffes bei Rywosch auch nur ganz geringe Werte für Paratyphus (A oder B?) (0,18) und Typhus (0,1) gegenüber beispielsweise Staphyl. aureus (2,0 ccm). Bujwid unterscheidet 4 Gruppen von Bakterien. In Gruppe 3, welche die Note: Katalase „wenig ausgesprochen" hat, befinden sich Paratyphus A und Typhus. Bei Jorns wird Paratyphus A und Alkaligenes mit Katalase = 0 angegeben. Es ist nicht gänzlich abzuweisen, daß die von mir untersuchten Stämme Paratyphus A und Typhus Katalase gebildet haben, aber in so geringen Mengen, daß ein Aufschäumen nicht eintrat. Immerhin würde es ein etwas seltsames Ereignis sein, daß 8 einwandfreie Typhus- und 6 Paratyphus A-Stämme nicht eine Spur von Schäumen erzeugten, wenn es nicht ihrer Eigenart entspräche.

Tabelle II legt den Grundstein für alle ferneren Untersuchungen. Aus den mit 3proz. H_2O_2 + Kultur gefüllten Glasröhrchen wurde mittels eines Glasdrahtes Material entnommen, auf Agarplatten ausgestrichen und bei 37° 24 Std. bebrütet. Alle Stämme waren gut gewachsen. Es war nachzuweisen, ob noch H_2O_2 in den frischgewachsenen Kulturen vorhanden war. Ich übergoß die Platten mit einer Lösung von JK + verdünnter H_2SO_4 + Stärkekleister. Spuren von H_2O_2 rufen unbedingt eine Verfärbung der Lösung hervor. Die Tabelle zeigt, daß eine sehr schwache Verfärbung auftrat. H_2O_2 war also noch in Spuren in den Kulturen. Trotzdem waren sie gediehen (Tabelle II).

Tabelle II.

Paratyphus A 2143 „ Král Typhus 2846 „ O 428 Paratyphus B O 150 „ 4435 Mäusetyphus	gewachsen, chemische Reaktion positiv

Aufbauend auf den Tatsachen, die sich aus den Versuchen der Tabelle II zeitigten, wurde nunmehr eine umfassende Prüfung von 20 artverschiedenen Stämmen angesetzt. Die Dauer und Möglichkeit des Lebens und der weiteren Entwicklung der Keime nach Vorbehandlung mit H_2O_2 sollte sich dartun. Flache Blockschälchen wurden mit 3proz. H_2O_2 angefüllt. Von neuerlich angesetzten Kulturen wurden größere Mengen mit Glasstäbchen abgeschabt und dem H_2O_2 in den Schälchen einverleibt. Aus dem Gemisch von H_2O_2 + Kultur wurde sofort etwas entnommen und auf Agar ausgestrichen. Darauf wurden die Gemische unter eine große Petri-Schale, also möglichst geschützt gegen Verunreinigungen, 2 Std. bei Zimmertemp. gestellt. Nach 2 Std. wurden die Gemische wiederum ausgestrichen. Beide Plattenreihen — die sofort und die nach 2 Std. angesetzten — wurden bei 37° 24 Std. bebrütet. Der gleiche Versuch wurde am nächsten Tage wiederholt (Tabelle III).

Tabelle III.

Kulturstämme	Katalase	I. Wachstum		II. Wachstum	
		bei sofortigem Ausstrich	nach 2 Std.	bei sofortigem Ausstrich	nach 2 Std.
Pyocyaneus 249	++++	+++	+++	+++	+++
Flexner O 530	++	—	+++	+++	+++
Y 3355	++	+++	+++	+++	+++
Coli 506	++	+++	+++	+++	+++
Lact. aërogenes 834	++	+++	+++	+++	+++
Enteriditis Gärtner	+++	+++	+ 1 Kol.	+++	+++
Diphtherie Wulfen	++	—	—	+++	—
Pseudodiphtherie Graue	++	+++	—	+++	+++
Staphyl. aureus	++++	+++	+++	+++	+++
„ albus	++++	+++	+++	+++	+++
„ citreus	+++	++	++	++	++
Prodigiosus	++++	+++	+++	+++	+++
Farbstoffbildner (Kokken)	+++	+	+	+	+
Milzbrand 2093	+	—	—	—	—
Kälberruhr	—	+	+	+	—
Alcaligenes	—	—	+	+	+
Paratyphus A 2843	—	—	—	++	—
„ B O 150	++	++	++	++	++
Typhus 2840	—	—	—	+	—
Mäusetyphus	+++	++	++	++	++

Versuch I zeigt, daß bei den sofort angesetzten Kulturen von 16 Katalasebildnern 3 nicht gewachsen sind. Die Katalaseentwicklung war bei diesen dreien nicht gerade stark gewesen. Nach 2stünd. Einwirkung der Katalase auf H_2O_2 zeigen wiederum 3 kein Wachstum. Flexner war gut gediehen; für ihn fiel Pseudodiphtherie aus. Diphtherie und Milzbrand waren in beiden Fällen nicht gewachsen.

Von den 4 Nichtkatalasebildnern sind 3 nicht gewachsen. Nach 2stünd. H_2O_2-Einwirkung gediehen 2 nicht. Alkaligenes zeigte schwaches Wachstum.

Der Kontrollversuch, bei dem etwa die doppelte Dosis Bakterienmaterial von Versuch I gebraucht wurde, veränderte das Bild dahin, daß von dem sofortigen Ausstrich sämtliche Katalasebildner (bis auf Milzbrand) und Nichtkatalasebildner sich auf der Platte entwickelt hatten. Der 2 Std. später vorgenommene Ausstrich wies bei den Bildnern 2 (Diphtherie und Milzbrand), bei den Nichtbildnern 2 negative Resultate (Typhus und Paratyphus A) auf.

Aus diesen Ergebnissen kann der Schluß gezogen werden, daß Milzbrand von H_2O_2 alsogleich abgetötet wird, resp. seine Wachstumstendenz verliert. Gegen H_2O_2 sind empfindsam nach der Häufigkeit ihres Wachstumsausfalls aufgezählt: Paratyphus A, Diphtherie, Typhus, Alkaligenes, Kälberruhr, Pseudodi. und Flexner. Diese Resultate weichen von denen Grete Singers ab, die Y und Typh. als gegen H_2O_2 besonders empfindsam bezeichnet.

Die Versuche der Tabelle IV zeigen ein weiteres Fortschreiten in den Erkenntnissen. Die Kernfrage rückt näher und wartet dringlich auf Beantwortung. Sind die Keime dem Tode geweiht, sofern sie sich nicht gegen H_2O_2 durch jenen geheimnisvollen Stoff, die Katalase, wehren? Ist es ihnen überhaupt möglich, bei Anwesenheit von nennenswerten Mengen H_2O_2 zu gedeihen, selbst wenn sie länger als 2 Std. diesem Protoplasmagift ausgesetzt sind?

Um nachzuweisen, daß Kulturen, nachdem H_2O_2 genügend lange Zeit auf sie eingewirkt hat, noch zu wachsen vermögen, daß andererseits in dem Gemisch H_2O_2 noch vorhanden resp. nicht mehr vorhanden ist bei gleichzeitig annähernd quantitativer Bestimmung der noch vorhandenen Menge H_2O_2, wurden 10 ccm Bouillon in Röhrchen mit 1 Oese Kultur beimpft. In die beimpfte Bouillon wurden bei Versuch A 2 ccm 3proz. H_2O_2 eingegossen, das Ganze bei 37° 5 Std. bebrütet und darnach auf Agarplatte ausgestrichen. Agarplatten und Röhrchen wurden nunmehr bei 37° 17 Std. in den Brutschrank gestellt. Am nächsten Tage wurde dann das Wachstum betrachtet. Der Bouillon fügte ich einige Tropfen JK + verdünnter H_2SO_4 + Stärkekleister zu, um zu ersehen, ob H_2O_2 nachweisbar wäre. Es sei bemerkt, daß Schaumbilden und Blasensteigen in der Bouillon schon nach 5stünd. Bebrütung nicht mehr ersichtlich waren, daß also bereits die Zersetzung von H_2O_2, sofern sie eintrat, nach 5 Std. ihr Ende erreicht hatte.

Die Zeichen in der Tabelle bedeuten: Kulturwachstum: ++++ = sehr gut. +++ = recht gut, ++ = gut, + = einige Kolonien, — = negativ. Intensität der Bläuung: ++++ = braunblau, +++ = dunkelblau, ++ = hellblau, + = hell-lila, — = negativ.

Tabelle IV. Abt. A.

Kulturstämme	Wachstum	H_2O_2-Nachweis	Kulturstämme	Wachstum	H_2O_2-Nachweis
Pyocyaneus 249	++++	—	Alcaligenes	—	+++
Flexner O 530	++	++	Paratyphus B O 150	++++	+
Y 3355	++	++	Mäusetyphus	++++	+
Staphyl. aureus	++++	—	Typhus 2840	+	+
„ albus	++	+	Paratyphus A 2143	+	++
„ citreus	++	—	Kälberruhr	+	+++

Wir ersehen aus der Tabelle, daß Pyocyaneus, Staph. aureus, Paratyphus B und Mäusetyph. sehr gut gediehen sind, bei Pyoc. und Aureus ist kein H_2O_2, bei Paratyphus B und Mäusetyph. nur noch sehr wenig H_2O_2 nachweisbar. Citreus hat H_2O_2 völlig zersetzt, das Wachstum ist gut. Alkaligenes ist nicht angegangen. Da er keine Katalase bildet, ist die Bläuung intensiv. Kälberruhr ist trotz Nachweis von reichlich H_2O_2 durch einige Kolonien auf der Platte vertreten, bei Typhus und Par. A scheint eine geringe Zersetzung stattgefunden zu haben. Flexner und Y. sind, obwohl sie wenig H_2O_2 zerlegten, gut gewachsen.

Abt. B der Tabelle IV bedarf keiner ausführlichen Erörterung. Es wurde beim Ansetzen wie bei A verfahren, nur daß 2 Reihen angesetzt worden sind, die eine mit 1proz., die andere mit 3proz. H_2O_2. Die verwandten Kulturen waren 2 Tage alt. Diese Notiz ist nicht unwichtig, da die Resultate kleine Abweichungen aufweisen (Tab. IV, Abt. B).

Tabelle IV. Abt. B.

Kulturstämme	I. 1 Proz. H_2O_2		II. 3 Proz. H_2O_2	
	Wachstum	Nachweis	Wachstum	Nachweis
Pyocyaneus 249	+++	−	++	(+)
Flexner O 530	+++	−	++	−
Y 3355	++	+	++	++
Staphyl. aureus	+++	−	++	+
„ albus	+	+	++	+
„ citreus	+	+	+	+
Shiga-Kruse 6421	+	++	(+) 1 Kol.	+++
Alcaligenes	+	++	(+) 1 Kol.	+++
Paratyphus B O 150	+++	(+)	++	+
Mäusetyphus	+++	(+)	++	+
Typhus 2840	+	+	+	++
Paratyphus A 2143	+	++	−	+++
Kälberruhr	+	++	(+) 1 Kol.	+++
Diphtherie Wulfen	+	+	+	++

1proz. H_2O_2 zersetzten völlig Pyocyaneus, Flexner und aureus, fast vollständig Paratyphus B und Mäusetyphus. Diese 5 Arten weisen auch das beste Wachstum auf. Citreus hat in seiner Katalasebildung etwas abgenommen, was sich sowohl in der positiven chemischen Reaktion als in dem sehr mäßigen Wachstum äußert (Alter der Kultur?). Im übrigen sind Katalasebildner und Nichtbildner gewachsen.

3proz. H_2O_2 wurde nur von Flexner ganz zersetzt (Alter der Kultur?), von Pyocyaneus annähernd. Aureus und Citreus sind chemisch positiv (Alter der Kultur?). Wachstumstendenz ist herabgesetzt. Par. A ist nicht gewachsen, Shiga, Alkaligenes und Kälberruhr äußerst mäßig bei sehr intensiver chemischer Reaktion. Wachstum von Ty. ist unbedeutend.

Welche Weiterungen ergeben sich aus diesen Resultaten?

1) Das beste Wachtum zeigen diejenigen Bakterienstämme, die am stärksten H_2O_2 zersetzen. — 2) Die Nichtkatalasebildner gedeihen durchschnittlich mäßig. — 3) Das Alter der Kultur scheint einen bald positiven, bald negativen Einfluß auf die Katalasebildung aus-

zuüben, d. h. die Katalase ist offenbar nicht ein unabhängiges Etwas, das lediglich seine Wirkung durch stärkere chemische Reagentien oder durch Erhitzen auf 72° einbüßt.

M. Leod, I. W. and I. Gordon haben vor kurzem eine Arbeit über die Empfindsamkeit der Bakterien gegenüber H_2O_2 herausgegeben. Leider war es nicht möglich, die Arbeit im Original zu erhalten. Sie gelangte im Auszug erst nach Beendigung der Untersuchungen in meine Hände. Jene Autoren folgern: „Keime, die keine Katalase bilden, sind im allgemeinen hinfällig, da sie durch Peroxyde, die sie selber bilden, oder die sich im Nährmittel unter Einfluß von Luft und Licht bilden (Dieudonné), getötet werden." Das würde sich decken mit dem, was in Satz 1 und 2 ausgesprochen ist.

In Tabelle V, Abt. A sind nochmals systematische Untersuchungen über das Verhältnis von Kulturenwachstum zu H_2O_2-Nachweis angestellt worden. Die Kulturen sind frisch bereitet. Materialien, Zeit, Temperatur der Bebrütung siehe Tabelle IV. Es wurde 1proz., 3proz. und 6proz. H_2O_2 benutzt, bei der ersten Untersuchungsreihe in Mengen von ca. 2 ccm pr. Röhrchen, bei der zweiten ca. 3 ccm pr. R. (Tab. V. Abt. A).

Tabelle V. Abt. A.

Kulturstämme	2 ccm H_2O_2						3 ccm H_2O_2				
	1 Proz.		3 Proz.		6 Proz.		1 Proz.		3 Proz.		6 Pr
	Wachstum	Nachweis	Wachstum	Nachweis	Wachstum	Nachweis	Wachstum	Nachweis	Wachstum	Nachweis	Wachstum
Pyocyaneus 249	++++	—	+++	—	++	—	++++	—	+++	—	—
Flexner O 530	++++	—	++	+++	+++	++	+	++	++	+	+
Y 3355	++++	—	—	+++	—	+++	++	+	+ +	(+)	+
Diphtherie Wulfen	(+) 1 Kol.	++	++	(+)	—	+++	(+)	+	—	+	—
Staphyl. aureus	++++	—	+++	—	(+) 1 Kol.	++	++++	—	+++	—	++
„ albus	++++	—	+	+	—	++	++++	—	+++	—	(+) 1 Kol.
Shiga-Kruse 6421	+++	++	++	++	(+) 1 Kol.	+++	++	++	—	++	—
Alcaligenes	+++	+	++	++	++	++	++	+	+++	+	++
Paratyphus B O 156	+++	—	++	+++	++	+++	+++	—	+++	+	+++
Mäusetyphus	++++	—	++	+++	++	+++	+++	—	++	++	+++
Typhus 2840	++	+	++	+++	++	+++	.	.	.	.	.
Paratyphus A 2843	—	+++	—	+++	—	+++	—	++	—	+++	—

Erste Versuchsreihe ergibt: 1 Proz. H_2O_2 chemische Reaktion negativ: Pyocyaneus, Flexner, Y, Aureus, Albus, Paratyphus B, Mäusetyphus; positiv: Alcaligenes, Diphtherie, Shiga, Paratyphus A, Typhus.

3 Proz. H_2O_2 chemische Reaktion: negativ: Pyocyaneus, Aureus; sehr schwach positiv: Diphtherie; stark positiv: Flexner, Y (kein Wachstum), Paratyphus A (kein Wachstum), Typhus, Paratyphus B, Mäusetyphus. Bei allen Kulturen, außer Diphtherie und Typhus, hat die Wachstumstendenz abgenommen.

6 Proz. H_2O_2 chemische Reaktion, negativ: Pyocyaneus; stark positiv: Y, Diphtherie, Shiga, Paratyphus A, Typhus, Paratyphus B, Mäusetyphus. Flexner nicht so stark positiv wie bei 3 Proz. (Wachstum besser). Kein Wachstum bei Y, Diphtherie, Albus, Paratyphus A; Wachstum verringert bei Pyocyaneus, Aureus, Shiga.

Das beste Wachstum zeigen die negativen, Shiga ist ausnahmsweise gut gewachsen, Diphtherie schlecht (stark positive Reaktion), Paratyphus A kein Wachstum.

2. Versuchsreihe ergibt das gleiche Bild wie die 1., nur daß alles infolge der größeren Menge von H_2O_2 (3 ccm) schärfer ausgeprägt ist. Aureus bleibt in der chemischen Reaktion bis zuletzt negativ.

Nunmehr liegt das Resultat von 156 Einzeluntersuchungen — abgerechnet 66 Vorversuche — vor. Immer wieder hat sich der Satz Loews bewiesen, daß ohne Katalase kein oder nur ein sehr beschränktes Leben der Bakterien möglich ist, oder, wie Rywosch sich ausdrückt, die Katalase habe die Funktion, das für jedes lebende Protoplasma giftige H_2O_2 sofort zu zersetzen. Auch M. Leod, I. W. and I. Gordon folgern, daß von dem Katalasebildungsvermögen der Keime abhängt, ob H_2O_2 für sie schädlich wird oder nicht.

Es kann kein Zweifel mehr an der Tatsache bestehen, daß die Katalasebildung eine Funktion der Bakterien ist, die aufs innigste verknüpft ist mit ihren Lebens- und Entwicklungsmöglichkeiten.

Warum aber bilden einige Stämme keine Katalase? M. Leod usw. sind der Ansicht, daß unter natürlichen Verhältnissen alle Keime die Neigung haben, H_2O_2 zu produzieren. Auf Grund welcher Untersuchungen sie zu dieser Erkenntnis gelangt sind, weiß ich nicht. Ich möchte entgegen ihrer Meinung hypothetisch äußern, daß die Nichtkatalasebildner keine Neigung haben, H_2O_2 zu bilden und infolgedessen auch nicht des Abwehrstoffes, der Katalase, bedürfen. Dieser Satz aber bedarf selbstverständlich der wissenschaftlichen Erhärtung.

Ich komme zum 2. Teil meiner Arbeit. Von Jorns wurde der Ausdruck Endo- und Ektokatalase geprägt. Beide Stoffe sind den Fermenten angeschlossen worden. Die Definition eines Fermentes lautet bis dahin, daß es in kleinsten Mengen größte Mengen eines anderen Stoffes chemisch zersetzen muß, ohne sich selbst in Qualität oder Quantität zu verändern. Das trifft für die Ektokatalase nicht zu. In Anschluß an die Versuchsreihen der Tabelle V A sei diese Ansicht bewiesen. Nachdem aus den dort gebrauchten Röhrchen, die ein Gemisch von 10 ccm Bouillon + Kultur + 2 resp. 3 ccm verschieden prozentigen H_2O_2 enthielten, 1—2 ccm vorsichtig in andere Glasröhrchen gegossen worden waren, um die chemische Reaktion auf H_2O_2-Gehalt anstellen zu können, wurde der Rest des Inhalts 10 Min. zentrifugiert. Auf das Bakterienzentrifugat goß ich frisches H_2O_2 auf. Dabei erwies sich, daß diejenigen Gemische, die chemisch positiv reagierten, also noch unzersetzliches H_2O_2 enthielten, sehr geringes oder in der Regel kein Aufschäumen und kein Aufsteigen von Blasen mehr zeigten. Daß die Bakterien nicht tot zu sein brauchten, um katalase-negativ zu sein, davon legten die häufig angegangenen Kulturen Zeugnis ab. Es wurde eben trotz Lebensfähigkeit der Bakterien keine Katalase mehr produziert. Diejenigen Gemische, die chemisch negativ reagierten, schäumten erneut auf, aber lange nicht so kräftig wie anfangs (Tab. V, Abt. B).

Diese Tatsache zugrunde legend, ist der Begriff Ferment für die Ektokatalase abzulehnen. Ich schlage vor, die Ektokatalase in die Reihe der Aggressine einzustellen, jener Stoffe, die von den Bakterien erzeugt werden, um sich gegen die Widerstandskraft des Organismus zu wehren, d. h. um ihr eigenes Ge-

deihen auf Kosten der Zersetzung ihnen feindlicher Substanzen zu sichern.

Tabelle V. Abt. B.

Kulturstämme	2 ccm H_2O_2			3 ccm H_2O_2		
	1 Proz. Katalase	3 Proz. Katalase	6 Proz. Katalase	1 Proz. Katalase	3 Proz. Katalase	6 Proz. Katalase
Pyocyaneus 249	+++	+++	+++	+++	++	—
Flexner O 530	++	+	—	—	—	—
Y 3355	++	+	—	—	—	—
Diphtherie Wulfen	—	++	—	—	—	—
Staphyl. aureus	+++	+++	—	+++	+++	++
„ albus	+	—	—	+++	++	—
Shiga-Kruse 6421	—	—	—	—	—	—
Alcaligenes	—	—	—	—	—	—
Paratyphus B O 156	++	—	—	+	—	—
Mäusetyphus	++	+	+)	+	—	—
Typhus 2840	—	—	—	—	—	—
Paratyphus A 2843	—	—	—	—	—	—

Literatur.

1) Jorns, Arch. f. Hyg. Bd. 57. 1908. — 2) Bugwid, Ebenda. Bd. 77. 1913. — 3) Grete Singer, Ebenda. Bd. 86. 1917. — 4) Rywosch, Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 44. 1907. — 5) M. Leod and Gordon, Centralbl. f. Gesamthyg. 1923. H. 5. — 6) Karl Oppenheimer, Die Fermente und ihre Wirkungen: Leipzig (F. C. W. Vogel) 1903. — 7) W. Kruse, Allgemeine Mikrobiologie: Leipzig (F. C. W. Vogel) 1910. — 8) Koning, Biologische und biochemische Studien über Milch: Leipzig (Heinsius) 1908. — 9) Knorr, Münch. med. Wochenschr. 1923. Nr. 46.

Nachdruck verboten.

Ueber „erzwungene" Antagonisten.

II. Mitteilung.

[Ukrainisches Rotes Kreuz, Laboratorium des Krankenhauses „Herbert Hoover".]

(Reichslaboratorium für Chemie und Bakteriologie.)

Von Dr. **Ignaz Schiller.**

In unserer ersten Mitteilung[1]) befaßten wir uns ausschließlich mit grampositiven Bakterien. Wir konnten nachweisen, daß 1) für alle von uns untersuchten Bakterien es möglich ist, solche Bedingungen zu schaffen, daß sie zu erzwungenen Antagonisten der gewöhnlichen pathogenen Bakterien werden, und 2) daß die Verdauung der lebenden Bakterien durch die erzwungenen Antagonisten in derselben Weise erfolgt, wie die Verdauung der unlöslichen Eiweißsubstanzen durch Bakterien, d. h. durch Ausscheidung einer proteolytischen Substanz.

Hier werden wir uns nun mit dem erzwungenen Antagonismus der Hefen und Bakterien beschäftigen.

1) Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 91. 1923. H. 1.

Mit der gegenseitigen Beziehung der Hefen und Bakterien befaßte sich schon seit geraumer Zeit die praktische Medizin, aber alles, was wir über diesen Gegenstand wissen, bezieht sich hauptsächlich auf Tatsachen empirischer Natur, was besonders zutage tritt, wenn es sich um therapeutische Fragen handelt, so z. B. die Beziehung der Bierhefen zu den Staphylokokken, zu der Vaginaflora usw. Etwas näher wurden die tryptischen und proteolytischen Fermente der Bierhefen in bezug auf die Auflösung der Bakterien untersucht, aber auch hier sind unsere Kenntnisse noch sehr lückenhaft.

Wir haben uns hier die Aufgabe gestellt, nachzuweisen, daß es auch für die Hefen möglich ist, solche Bedingungen zu schaffen, daß sie zu erzwungenen Antagonisten der Bakterien werden, und daß die Verdauung der lebenden Bakterien auch durch Ausscheidung auflösender Fermente geschieht.

Unter natürlichen Bedingungen sind die Hefen keine Antagonisten der uns hier interessierenden Bakterien (Staphylokokken, Typhus- und Paratyphusbazillen und Choleravibrionen). Im Laufe unserer Studien konnten wir öfers Verunretinigung der Hefekulturen durch die eben erwähnten Bakterien beobachten. Deswegen sind besondere Methoden nötig, um die Hefen zur Verdauung der Bakterien zu veranlassen. Sie bestanden darin, daß die Hefen und Bakterien unter solche künstliche Bedingungen gebracht werden, daß zwischen ihnen ein Existenzkampf entsteht und die eine der anderen zum Opfer fällt.

Da zur normalen Entwicklung die Hefen Kohlehydrate und stickstoffhaltiger Substanzen bedürfen, deswegen dachten wir, daß durch Zusammenbringen von destill. Wasser, welches nur gelöste Glukose enthält ($^1/_2$—2 Proz.), Hefen und Bakterien, die ersten in der Suche nach stickstoffhaltigen Substanzen die lebende Quelle derselben, die Bakterien, angreifen und sie als Nahrung verwerten würden und so eine Verdauung der lebenden Bakterien erzielt werden würde.

Zuerst benutzten wir ausschließlich flüssige Nährböden, verwandten später aber Agar ohne Salz, ohne Bouillon und ohne Pepton. Obwohl der Agar stickstoffhaltige Substanzen enthält, ist die Quantität derselben doch ungenügend zur Entwicklung der Hefen und reichen anderseits auch nicht zur Begünstigung des Widerstandes der Bakterien aus.

Weiterhin werden wir zeigen, daß es leicht gelingt, bei Anwendung der eben erwähnten Methoden die Hefen in Antagonisten der Bakterien zu verwandeln. Ueber die verschiedenen Modifikationen unserer Grundmethoden werden wir bei Besprechung der Versuche berichten.

Versuch Nr. 1. In einen Kolben, der 1 l einer $^1/_2$proz. wässerigen Glukoselösung enthält, werden eine 24stünd. Agarkultur des Staphylococcus albus und 5 Oesen Weinhefen[1]) gebracht. Dieser Nährflüssigkeit werden noch 1—2 ccm Bouillon zugefügt[2]).

Nach 24 Std. bemerken wir eine starke Vermehrung der Hefen, die sich zum Boden setzen und einen dicken, weißen Niederschlag bilden, der die Bakterien mit sich reißt. Dabei entsteht eine heftige Alkoholgärung mit Schaumbildung.

---

1) Alles, was wir hier über die Weinhefe mitteilen, bezieht sich auch auf Bier- und andere Hefearten.

2) In unserer 1. Mitteilung haben wir die Fähigkeit der kleinen Bouillondosen, die Freßlust der Antagonisten anzuspornen, hervorgehoben.

Die Bakterien, welche sich am Boden befinden, sind noch lebensfähig, denn sie vermehren sich bei Ueberimpfung auf die üblichen Nährböden. Nach 72 Std. hört der Gärungsprozeß auf. Fügen wir wieder Bouillon hinzu, so entsteht Gärung und parallel eine beträchtliche Verminderung der Bakterienzahl.

Bouillon wird so oft hinzugefügt, bis die Staphylokokken vollständig vernichtet sind.

Die Vernichtung der Staphylokokken durch die Hefen wurde durch Zählungen der Kolonien (auf Petri-Schalen) kontrolliert, wobei sich folgende Zahlen ergaben:

Dauer des Zusammenbleibens der Hefen und der Bakterien	Zahl der Staphylokokkenkolonien in $^1/_{10}$ ccm
24 Std.	806
48 „	422
72 „	77
96 „	0

Oefters kommt es vor, daß die Gärfähigkeit der Hefen vor der vollständigen Vernichtung der Bakterien aufhört. In diesen Fällen wird der Inhalt des Kolbens in 2 andere Kolben übertragen (mit je 500 ccm derselben Nährflüssigkeit) unter Zusatz von 1—2 ccm Bouillon. Gewöhnlich tritt schon am nächsten Tage nach dieser Ueberimpfung starke Alkoholgärung mit heftiger Schaumbildung ein und parallel auch die Vernichtung der Bakterien.

Was wir eben über die Staphylokokken berichteten, bezieht sich auch auf andere Bakterien, so auf die Typhus-, Paratyphus- und Dysenteriebazillen und die Choleravibrionen[1]). Auf diese Weise konnten wir Generationen von Hefestämmen züchten, die niemals andere stickstoffhaltige Substanzen bekamen als diejenigen, die sie selbst aus den obengenannten Bakterien bezogen.

Die Verdauung der Bakterien durch die Hefen geschieht unserer Meinung nach in der Weise, daß sie in das Milieu bakteriolytische Substanzen ausscheiden.

Wenn wir sogar annehmen, daß die Verdauung intrazellulär erfolgt, so ist es auch in diesem Falle nicht ausgeschlossen, daß ein Teil der bakteriolytischen Substanz infolge der Autolyse der Hefen in das Milieu gelangt.

Versuch Nr. 2. Um das bakteriolytische Vermögen der ausgeschiedenen Substanz nachzuweisen, verfuhren wir folgendermaßen: Nachdem in dem Kolben, welcher 1 l einer 1proz. Glukoselösung enthält, die vollständige Vernichtung der Bakterien erfolgt war, wird die Flüssigkeit durch längeres Abzentrifugieren von den Hefen befreit. Sie wird dann im Brutschrank bei 37° C bis zu 30 ccm reduziert. Wenn wir jetzt in diese Flüssigkeit $^1/_{20}$ Teil einer 24stünd. Agarkultur des Staphylococcus bringen, so löst er sich binnen 1 Std. vollständig auf. Bei der darauffolgenden Ueberimpfung auf Nähragar konnten wir den Staphylococcus nicht mehr nachweisen.

Wie wir schon oben bemerkten, benutzten wir in unseren späteren Versuchen ausschließlich feste Nährböden. Die Oberfläche einer Petri-Schale, die $^1/_2$—2 Proz. Glukoseagar (ohne Bouillon, Pepton und Salz)

1) Unsere Studien über die Verdauung der Sporen und der Tuberkelbazillen sind noch nicht abgeschlossen.

enthält, wird mit einer halben Staphylokokken- und einer ganzen Bierhefenkultur geimpft. Nach 24 Std. (bei 20° C) beobachteten wir eine starke Vermehrung der Hefen auf Kosten der Staphylokokken, die stellenweise (bei mikroskopischer Betrachtung) ganz verdaut sind. Bei Methylenblaufärbung bekamen wir folgendes Bild: Im Protoplasma der Hefe eine große Zahl von Vakuolen; im Innern derselben Körnchen verschiedener Größe eingeschlossen. Einige dieser Körnchen erreichen die Größe der Staphylokokken, haben aber keine deutliche Umgrenzung und färben sich nicht so intensiv wie die letzten. Sie erinnern an den Chromidialapparat der lebhaft funktionierenden Zellen, wie er von verschiedenen Autoren beschrieben worden ist. Bei den Kontrollhefen (auf den üblichen Nährböden) finden sich solche Körnchen nicht, und die Zahl der Vakuolen ist auch viel geringer. Die Körnchen beobachteten wir auch bei der Verdauung verschiedener Bazillen; niemals aber konnten wir einzelne Stäbchen in den Vakuolen sehen. Wir glauben daher nicht, es mit einer intrazellulären Verdauung zu tun zu haben.

Nach 24 Std. waren die Staphylokokken nicht vollständig verdaut; sie wurden daher zusammen mit den Hefen auf 4 Petri-Schalen (mit demselben Nährboden) übertragen. 24—48 Std. nach der Ueberimpfung bekamen wir reine Hefekulturen. Sollten einige Staphylokokken noch nicht verdaut sein, so muß man die Freßlust der Hefen aktivieren. Zu diesem Zwecke verwandten wir verschiedene Methoden. Die eine bstand darin, daß wir zum Glukoseagar (ohne Salz, Pepton usw.) 1 oder 2 Tropfen einer 10proz. Glukoselösung zufügten. Eine Variation dieser Methode bestand darin, daß wir anstatt wässeriger Glukoselösung eine 10proz. Glukosebouillon (einige Tropfen) anwandten. Man kann aber auch der Glukoselösung einige Tropfen absoluten Alkohols zusetzen. Als bester Aktivator erwies sich aber Bouillon mit Glukose, und an zweiter Stelle Glukose mit absolutem Alkohol.

Anstatt die eben besprochenen Lösungen dem Agar zuzufügen, können wir auch folgendermaßen handeln: Der zur Verdauung bestimmte Staphylokokkus wird in 1 ccm irgendeiner Aktivierungsflüssigkeit aufgeschwemmt und verbleibt dort 1—24 Std. Erst dann wird auf Agar (ohne Flüssigkeit) zusammen mit den Hefen übertragen. Bei Anwendung einer von diesen Methoden werden die Bakterien in viel kürzerer Zeit verdaut.

Um die Wirkung der auf festem Boden gebildeten bakteriolytischen Substanz nachzuweisen, verfuhren wir folgendermaßen:

Versuch Nr. 3. Nachdem die Bakterien vollständig verdaut waren, emulsionierten wir die Hefen in 2—3 ccm destill. Wasser, welches später nach langem Zentrifugieren vollständig von allen Zellen befreit wird. Zu der ganz klaren Flüssigkeit fügen wir 1 Oese einer 24stünd. Staphylokokkenkultur zu. Nach 20 Min. beobachteten wir unter dem Mikroskop folgendes: Der Staphylokokkus ist in kleine Häufchen zusammengeballt, und der größte Teil der Zellen ist nicht mehr nach Gram färbbar. Später werden die Zellgrenzen wegen der Aufquellung der einzelnen Staphylokokken verwischt, und schließlich bekommen wir amorphe Massen, die sich sogar mit Fuchsin nur sehr schwer färben. Nach 2—3 Std. können die Staphylokokken weder mikroskopisch noch bei Ueberimpfung auf gewöhnlichen Agar nachgewiesen werden.

Die bakteriolytische Wirkung der ausgeschiedenen Substanz läßt sich auch in der Bouillon und im Blutserum

(des Menschen) nachweisen. Wir verfuhren dabei wie oben, nur werden die Hefen anstatt im destill. Wasser in Bouillon oder im Blutserum aufgeschwemmt. Die Bakterien werden in derselben Weise und in derselben Zeit, wie oben beschrieben, aufgelöst.

Die Wirkung der bakteriolytischen Substanz ist besonders demonstrativ, wenn bewegliche, gramnegative Bakterien aufgelöst werden. Zuerst hört jede Bewegung auf. Was die eigentlichen Zerstörungen anbetrifft, so erinnern sie an diejenigen, welche während des Pfeifferschen Phänomens vorkommen. Besonders leicht lösen sich die Typhus- und Paratyphusstäbchen und die Choleravibrionen. Sie verwandeln sich entweder in kugelförmige Gebilde, oder schwellen bis zur Größe eines B. subtilis an, dabei hören sie sehr schnell auf, sich mit Fuchsin zu färben (nach 20 Min.). Bald darauf erfolgt die vollständige Auflösung der Zellen.

Bei manchen Stämmen beobachteten wir einen anderen Auflösungsmodus, wobei die Zellen in kleine, noch färbbare Körnchen, die später restlos verschwinden, zerfallen.

Die bakteriolytische Substanz, welche von den Hefen ausgeschieden wird, ist thermolabil und wird bei 60° C zerstört; sie ist nicht streng spezifisch, da sie auch auf verwandte Arten auflösend wirkt.

Wenn Bakterien der Wirkung der bakteriolytischen Substanz ausgesetzt werden, so lösen sie sich entsprechend ihrer Widerstandsfähigkeit in kürzerer oder längerer Zeit auf. Wir benutzten diese Tatsache, um resistente Rassen zu gewinnen.

Wenn die Hefen veranlaßt werden, solche resistente Bakterien zu verdauen, so müssen sie in verstärktem Maße die auflösende Substanz ausscheiden. Bei Prüfung der Wirkung solcher bakteriolytischen Substanzen auf die Verdauung natürlicher (nicht resistenter) Stämme bemerkten wir eine viel raschere Auflösung der Bakterien, und zwar anstatt in 2—3 Std. in 1—2 Std. Bei Selektion widerstandsfähiger Staphylokokken gewannen wir einen Stamm, der auch morphologisch etwas anders aussah, indem die einzelnen Zellen größer waren und kleine Ketten bildeten. Was die Farbstoffbildung anbetrifft, so waren keine merklichen Differenzen nachzuweisen.

Morphologische Differenzen bei anderen resistenten Bakterienarten wurden nicht beobachtet.

Die bakteriolytische Substanz, welche die Hefen ausscheiden, ist in vieler Hinsicht von Interesse, denn sie besteht wahrscheinlich aus verschiedenen Fermenten, welche die Eiweißsubstanzen, die Zellulose (?) und die Hemizellulose auflösen. Ueber diese Frage hoffen wir in einer späteren Mitteilung berichten zu können.

Zusammenfassung der Resultate.

1) Wenn Bier- oder Weinhefen sich zusammen mit Bakterien in einem zuckerhaltigen, aber stickstofffreien Milieu befinden, so werden sie zu Antagonisten der letzteren. — 2) Die Verdauung der lebenden Bakterien (grampositiven und gramnegativen) erfolgt durch Ausscheidung einer bakteriolytischen Substanz. — 3) Diese letztere wirkt auch außerhalb der Hefen. — 4) Beim Erhitzen auf 60° C wird die bakteriolytische Substanz zerstört. — 5) Sie ist nicht streng spezifisch. —

6) Die bakteriolytische Substanz ist auch in der Bouillon und im Blutserum wirksam. — 7) Die Verdauung der resistenten Bakterienrassen erfolgt durch Ausscheidung einer mehr aktiven bakteriolytischen Substanz.

Nachdruck verboten.

Zur Technik der Anaërobenzüchtung. III.

Einmachegläser als Exsikkatoren zur Anaërobenzüchtung.

[Aus dem Hygienischen Institut der Universität Rostock (Direktor: Professor v. Wasielewski).]

Von Stabsarzt Dr. **Brekenfeld.**

In Heft 5 des 91. Bandes dieser Zeitschrift habe ich ein Verfahren angegeben zur Herstellung eines Vakuums in einzelnen Kulturschalen mittels einer Saugdrüse.

Es lag nahe, die Saxonia-Saugdüse nun auch zur Herstellung anaërober Verhältnisse in Einmachegläsern zu verwenden, da besonders die hohen 2 Ltr.-Gläser zur Aufnahme einer großen Zahl Hirnbrei-, Leberbouillon- oder anderer anaërob zu bebrütender Kulturröhrchen geeignet schienen. Die Versuche, die zusammen mit dem Plattenverfahren schon einmal begonnen waren, damit mit $^1/_4$ Ltr.-Weckgläsern aber nicht glücken wollten, hatten später mit 1 und 2 Ltr.-Einmachegläsern vollen Erfolg, wobei natürlich nur Gläser mit übergreifendem Deckel in Frage kommen. Die hier jetzt als Exsikkatoren für Kulturröhrchen verwendeten Einmachegläser sind in der Hauptsache etwa 24 cm hohe 2 Ltr.-Gläser (Marke Siemens-Glas) mit einem Deckeldurchmesser von ca. 12 cm. Ein solches Glas faßt etwa zwanzig Kulturröhrchen und kostet hier in den einschlägigen Geschäften etwa 1,10 Goldmark, dazu zwei möglichst breite Gummiringe je 10 Pf., zusammen also der ganze Apparat etwa 1,30 Goldmark. Daß man auf völlige Unversehrtheit des Glases und besonders auch der Deckelkante achten muß, versteht sich angesichts des Vakuums von 10—20 mm, dem das Glas standhalten soll, von selbst.

Zur Herstellung des Vakuums werden die zwei Gummiringe sachgemäß auf den Glasrand gelegt, der Deckelrand mit gelber Vaseline eingefettet (eine Maßnahme, die nicht immer nötig ist, sich aber als sehr zweckmäßig erwiesen hat), dann die Saugdüse, die nach Einschaltung einer Waschflasche an die Wasserstrahlpumpe angeschlossen ist, zwischen die beiden ein wenig zurückgezogenen Gummiringe so hindurchgeschoben, daß ihr äußerstes Ende etwa 1—2 mm freiliegend auf der Innenseite hervorsieht, und nun zum Schluß der Glasdeckel so aufgepreßt, daß das nach innen hineinragende Düsenende zwischen Glas und Deckelrand liegt, was ohne besondere Schwierigkeiten erreicht wird. Nach wenigen Sekunden ist der Deckel festgesaugt und innerhalb von ca. 10 Minuten ein Vakuum, je nach dem Wasserdruck, von 10—20 mm hergestellt.

Auf die von Kirchner in Heft 5 des 91. Bandes bei Exsikkatoren mit plangeschliffenen, breiten Glasrändern empfohlenen Draht-

einlagen zwischen den Gummiringen kann hier, wie bei dem von mir angegebenen anaëroben Plattenverfahren, verzichtet werden, weil hier der übergreifende, konisch abgeschliffene Deckelrand tief genug in die Gummiringe einschneidet, um den sicheren Luftabschluß zu erzielen.

Zur Resorption des Restsauerstoffes wird auch hier eine alkalische Pyrogallollösung benutzt, und zwar in folgender Weise: Vor der Beschickung des Glaßes mit den Kulturgefäßen wird dieses mit einer 1—2 cm hohen Wassersäule (zur Vermeidung der Austrocknung) gefüllt. 1—2 g Pyrogallol wird in ein Blatt eines Taschennotizblockes (10×8 cm) gewickelt und in ein ca. 3 cm hohes Glasschälchen von einem Durchmesser von 7 cm getan, welches alsdann in das Einmacheglas gestellt und mit einem durchlöcherten, durch Umwickelung mit Maschendraht stabiler gemachten Papp- oder einfachem Holzdeckel bedeckt wird. Nach Einbringen der Kulturröhrchen und eines Vakuummeters werden mit einer genügend langen Pipette 10—20 ccm 5—20-proz. Kalilauge durch ein Deckelloch in das Pyrogallolschälchen gegeben, dann schnell etwa für diese Maßnahme noch herausgelassene Kulturgefäße eingebracht und evakuiert. Durch das Einwickeln des Pyrogallols in festes Blockpapier erreicht man, daß sich die zum Schluß zugegebene Kalilauge nur langsam mit dem Pyrogallol verbindet. Man kann durch die Art des Einwickelns den Zeitpunkt der Verbindung bis zur Herstellung des gewünschten Vakuums hinauszögern.

Zum Oeffnen der Gläser benutze ich einen der patentierten Weckglasöffner, und zwar zurzeit eine Drahtschlinge, die zwischen Deckel und oberstem Gummiring vermittels eines Schraubenmechanismus langsam hindurchgezogen wird, bis das Glas aufspringt. Das Eindringen der Luft geschieht auf diese Weise genügend langsam. Die Gummiringe werden geschont. (Preis des Oeffners 0,50 Goldmark.)

Ich habe in den letzten Wochen meine Kulturröhrchen nur noch in solchen sehr billigen, sauberen und einfachen Exsikkatoren bebrütet und nie mehr einen Versager erlebt. Das Wichtigste ist, daß die Düse frei in den Innenraum hineinsieht, daß beide Gummiringe gleichmäßig ein wenig zurückgezogen werden, damit sich nicht der obere oder untere Gummiring bei einer mäßigen Luftleere vor die Düsenöffnung legt und ein weiteres Evakuieren verhindert. Außer der sehr einfachen Handhabung und der Schlußsicherheit liegt ein weiterer großer Vorteil in der Handlichkeit der Gläser und ihrem geringen Raumverbrauch im Brutschrank gegenüber den bisher gebräuchlichen, viel breiteren bzw. höheren Exsikkatoren.

Zum Schluß sei bemerkt, daß sich für einzelne Röhrchen auch das 1 Ltr.-Weckglas gut eignet[1]).

Versuche mit 3—4 Ltr.-Einmachegläsern konnte ich in Ermangelung von solchen bzw. geeigneten Gummiringen bisher leider nicht ausführen. Sie waren zurzeit in Rostock nicht zu haben. 3 und $3^1/_2$ Ltr.-Gläser vermögen etwa 8 Petri-Schalen zu fassen, 4 tLr.-Gläser wahrscheinlich noch mehr. Es ist beabsichtigt, diese großen Gläser auf ihre Brauchbarkeit zur Anaërobenzüchtung zu erproben, sobald sie beschafft werden können.

1) Inzwischen haben sich $3^1/_2$ Ltr.-Gläser als zuverlässig im Verschluß erwiesen. Ausprobieren der Gläser **vor** Kaufabschluß ist bei Einmachgläsern dringend anzuraten. Saugdüsen mit und ohne Druckschlauch können bei L. Leitz (Vertreter Bergmann) Berlin NW Luisenstr. bezogen werden.

Nachdruck verboten.

Einfluss der Revakzination auf die virulizide Kraft des Blutes beim vakzineimmunen Kaninchen.

[Aus dem Institut zur Erforschung der Infektionskrankheiten in Bern (Direktor: Prof. G. Sobernheim).]

Von Dr. **T. Yonezawa.**

Vorbemerkungen.

Die Art und Weise, wie der Mensch auf die Revakzination reagiert, unterscheidet sich nach ihrem Wesen durchaus von dem Verlauf einer erstmaligen Impfung. Diese wichtige Tatsache, auf die durch v. Pirquet die Aufmerksamkeit gelenkt worden ist, hat dazu geführt, die Bedeutung der Revakzination für die Verstärkung des Pockenschutzes einer erneuten Untersuchung zu unterwerfen. Man kann der Uebersichtlichkeit wegen die bei Revakzinierten auftretenden Erscheinungen am besten in 4 verschiedene Formen einteilen, indem man folgende Abstufungen unterscheidet:

1) Frühzeitig, etwa 24—48 Std. nach der Impfung, auftretende Rötung und Anschwellung der Impfschnitte, unter vorübergehendem heftigen Jucken an der Impfstelle. Die Reaktion ist nach 3 Tagen abgelaufen, und nach 1 Woche zeigen die Impfschnitte nur rötliche Höfe und geringe Verschorfung. Auch ein Knötchen kann sich dabei finden (Frühreaktion). — 2) Die Frühreaktion verläuft etwas langsamer, und es kommt nach 3—4 Tagen zur Entwicklung von kleinen Knötchen, Pusteln und selbst Bläschen an der Impfstelle (Bläschenreaktion). Die Rückbildung erfolgt dann ziemlich rasch, und es zeigen sich an einem oder dem anderen Impfschnitt etwas größere Höfe sowie verschorfte Knötchen. — 3) Entwicklung einer typischen Vakzinepustel, nur bleibt die Entwicklung unvollkommen, und die Rückbildung erfolgt sehr schnell (modifizierte Vakzine). — 4) Impfreaktion mit typischer Pustelbildung genau wie bei einem Erstimpfling.

Für den Verlauf der Reaktion in der einen oder anderen Form ist der Immunitätszustand des Individuums im Augenblick der Revakzination maßgebend. Kommt es zu einer typischen Pustelbildung, wie sie unter Nr. 4 erwähnt ist, so ist dies offenbar ein Zeichen, daß die bei der erstmaligen Impfung entstandene Immunität in der Zwischenzeit wieder vollkommen erloschen war, und es kann ferner keinem Zweifel unterliegen, daß die Revakzination, die in diesem Falle eine Reaktion wie beim Erstimpfling hervorruft, zugleich auch den verschwundenen Impfschutz wiederherstellt. In dem unter Nr. 3 erwähnten Fall, wobei es auch zur Pustelbildung kommt, nur daß der Verlauf etwas beschleunigt und abgekürzt erscheint, ist man gewiß ebenfalls zu dem Schluß berechtigt, daß die stark zurückgegangene Immunität des Impflings im Anschluß an die Revakzination eine Auffrischung und Verstärkung erfährt.

Anders liegen die Dinge da, wo der Wiederimpfling nur eine Frühreaktion oder höchstens Knötchen- und Bläschenbildung aufweist. Eine Reihe von Autoren, wie v. Pirquet, Paul, Gins u. a., erblicken in diesen Erscheinungen lediglich ein Symptom, das den Immunitätszustand des Individuums widerspiegelt, also anzeigt, daß der Organismus noch über einen entsprechenden Grad von Immunität verfügt. Dagegen wird, wie z. B. besonders Gins nachdrücklich betont, durch eine solche Frühreaktion eine Verstärkung des an sich noch sehr wirksamen Impfschutzes nicht herbeigeführt. Auch Jürgens nimmt, freilich aus anderen Gründen, an, daß die Revakzination nicht imstande sei, die Pockenimmunität des Impflings zu erhöhen. Demgegenüber erblickt Paschen in der Frühreaktion nicht einfach einen Indikator für den vorhandenen Immunitätsgrad, sondern auch zugleich ein immunitätssteigerndes Moment, und Sobernheim hält auf Grund der von Sato ausgeführten Tierexperimente es ebenfalls für möglich, daß die Revakzination in solchen Fällen, wo sie keine typische Reaktion auslöst, doch die Immunität des betreffenden Menschen verstärken könnte.

Die Satoschen Versuche gehen von der Tatsache aus, daß Kaninchen auf die Vakzineinfektion mit der Bildung virulizider Antikörper reagieren. Da diese Antikörper nach einigen Monaten wieder aus dem Blute zu verschwinden pflegen, während die Immunität der Tiere noch fortbesteht, so prüfte Sato, ob in solchen Fällen die Revakzination, die infolge der noch vorhandenen Immunität reaktionslos verläuft, trotzdem ein Wiedererscheinen bzw. eine erneute Vermehrung der viruliziden Antikörper zur Folge hat. Das Experiment fiel eindeutig positiv aus. Es ließ sich zeigen, daß immunisierte Kaninchen, deren Blut nur noch einen relativ geringen Gehalt an viruliziden Antikörpern besaß, auf eine reaktionslos verlaufende Revakzination hin alsbald wieder größere Mengen von viruliziden Antikörpern aufwiesen. Da man annehmen darf, daß der Antikörpergehalt des Blutes auch bei der Vakzineimmunität des Kaninchens einen Maßstab für die Immunität des betreffenden Tieres abgibt, so war damit der Beweis geliefert, daß auch bei Ausbleiben einer typischen Vakzinereaktion durch die Revakzination eine Verstärkung der Immunität erzielt werden kann.

Selbstverständlich gelten diese Beobachtungen zunächst nur für das Kaninchen. Sie dürfen nicht einfach auf den Menschen übertragen werden, wie dies von Sobernheim und Sato des näheren dargelegt worden ist. Die Menge der Lymphe, d. h. des Vakzinevirus, die man auf die Kaninchenhaut bei der bekannten Art der Kutaninfektion in langen Skarifikationen einbringt, ist namentlich zur Größe und zum Körpergewicht des Tieres ganz unverhältnismäßig viel größer als die bei der Impfung des Menschen verwendete Virusmenge. Man könnte also schon in diesen quantitativen Differenzen einen Grund finden, weshalb das Ergebnis des Kaninchenexperiments von vornherein nicht auf das Verhalten des Menschen bei der Revakzination übertragen werden darf. In ähnlicher Weise äußern sich auch Gins und Haendel. Anderseits ist freilich zu erwägen, daß die Empfänglichkeit des Menschen für das Vakzinevirus erheblich größer ist, als die des Kaninchens, so daß möglicherweise bei der Revakzination des Menschen wesentlich geringere Virusmengen das gleiche leisten könnten, wie die großen Mengen beim Kaninchen.

Die Frage müßte also vor allem am Menschen entschieden werden. So sind denn auch Versuche gleicher Art, wie sie Sato angestellt hatte, von Fujii bei vakzinierten und revakziniereten Menschen vorgenommen worden, indem er prüfte, inwieweit hier eine ohne Pustelbildung, nur unter dem Bilde der Frühreaktion verlaufende Revakzination die Antikörperbildung anregt und verstärkt. Leider haben diese Experimente zu keinem eindeutigen Ergebnis geführt, weil, im Gegensatz zum Kaninchen, der Mensch selbst auf eine mit stärkster Reaktion verlaufende Erstimpfung nur unvollkommen und unregelmäßig virulizide Antikörper in seinem Blute produziert. Die Resultate, welche neuerdings von Goerttler bei ähnlichen Experimenten erhalten wurden, ließen zwar vielfach eine verstärkte Virulizidie des Blutes, auch nach reaktionslos verlaufener Revakzination, erkennen, doch ergibt sich aus den Versuchsprotokollen, daß diese Verstärkung ziemlich weit hinter den von Sato im Kaninchenexperiment gefundenen Werten zurückbleibt.

Es gab aber noch einen anderen Weg, um auch im Tierversuch die Wirkung der Revakzination unter Bedingungen zu prüfen, die den Verhältnissen beim Menschen besser Rechnung tragen als die früheren Experimente. Wenn in der Tat lediglich die große Menge des verimpften Virus, speziell beim Kaninchen, maßgebend war für die bedeutende Verstärkung der Virulizidie des Blutes, so brauchte man an Stelle der ausgedehnten Skarifikationen, wie sie bei den Kutanimpfungen des Kaninchens angewendet werden und auch von Sato angewendet worden sind, ja nur den beim Menschen üblichen Impfmodus heranzuziehen. Es mußte sich dann zeigen, ob nicht bei Verimpfung kleiner Vakzinemengen die gleichen Resultate zu erhalten seien. Gelang das und ließ sich auch in diesem Falle bei reaktionslosem Verlauf der Revakzination eine erneute und verstärkte Antikörperbildung nachweisen, so gewann damit auch das Kaninchenexperiment größere und allgemeinere Beweiskraft. Die Frage nach dem Zusammenhang der Virulizidie des Blutes mit dem Immunitätszustand des Individuums kann dabei zunächst unberücksichtigt bleiben. Hierüber sind im hiesigen Institut weitere Untersuchungen im Gange. Aber es war von Interesse, das Verhalten des immunisierten Tieres hinsichtlich der Neubildung von Antikörpern bei milder Revakzination näher zu untersuchen.

Ich habe diese Experimente auf Anregung von Herrn Prof. Sobernheim ausgeführt und möchte im folgenden über die Ergebnisse berichten:

Eigene Versuche.

Die Versuchsanordnung gestaltete sich so, daß eine Anzahl von Kaninchen zunächst mit unverdünnter virulenter Glyzerinlymphe infiziert wurde. Die Impftechnik war dabei die gleiche, wie man sie bei der Vakzination des Menschen anwendet. Es wurde zu diesem Zweck die Rückenhaut auf einer Fläche von ca. 5×5 cm enthaart, und nach 1—2 Tagen, wenn keine Reaktionserscheinungen mehr vorhanden waren, wurden 6 flache Hautschnitte angelegt, je 1 cm lang und mindestens 2 cm voneinander entfernt. Die Vakzine wurde bei Anlegung der Schnitte mit der infizierten Lanzette eingetragen und auf den Impfschnitten gut verteilt. Von einem stärkeren Einreiben wurde absichtlich abgesehen. In allen Fällen war die Impfreaktion von

typischer Pustelbildung gefolgt; in der zusammenfassenden Tabelle finden sich hierüber bei jedem Tier die entsprechenden Angaben. Die Ohrimpfungen, die bei einigen Tieren ausgeführt wurden, gestatten die Impfreaktion sehr schön zu beurteilen. Es kommt, wie durch einige Vorversuche festgestellt worden war und wie die Kontrolltiere zeigten, regelmäßig zur Rötung und Schwellung der Impfschnitte, späterhin zu charakteristischer Papelbildung und selbst zur Ausbildung kleiner Pusteln. Besonders deutlich lassen sich die Veränderungen erkennen, wenn man das Kaninchenohr bei durchscheinendem Licht betrachtet. Nach ca. 6—8 Wochen wurde alsdann den Tieren eine Blutprobe entnommen und im viruliziden Versuch genau ausgewertet. 2 Tage später folgte die Revakzination. Sie wurde teils an der Rückenhaut, teils an der Innenfläche des Ohres vorgenommen. Bei der Wiederimpfung war die Technik die gleiche wie das 1. Mal, es wurden also wiederum 6 ca. 1 cm lange Impfschnitte angelegt, und zwar auf der anderen Seite. Einige Zeit nach der Revakzination wurde dann abermals der virulizide Versuch angestellt, und zwar gewöhnlich nach 2—3 Wochen. Bei der Ausführung des viruliziden Versuchs habe ich mich der namentlich von Gins, dann von Sato. Fujii und Schneider angewendeten Technik bedient. Es wurde also das Serum in verschiedenen Verdünnungen mit der stets 1:50 verdünnten und durch Zentrifugieren von gröberen Partikelchen befreiten Glyzerinlymphe vermischt, im Brutschrank belassen und dann das Serum-Lymphegemisch auf die Kaninchenkornea verimpft. Zur Kontrolle wurde in jedem Falle eine gleich behandelte Lymphe-Kochsalzmischung herangezogen.

Ueber die Resultate meiner Untersuchung gibt die beigefügte Tabelle Auskunft. Es sind darin die für unsere Frage wesentlichen und verwertbaren Versuchsergebnisse enthalten. Leider sind mehrere Tiere im Laufe der Behandlung an interkurrenten Erkrankungen eingegangen. Daher ist die Zahl der Versuchstiere, die für die Beurteilung in Betracht kommen, nur klein, und überdies sind von den 7 Fällen, über die ich berichten kann, 3 nicht vollständig, weil 3 Tiere bald nach der Revakzination eingingen und der virulizide Versuch infolgedessen nicht zum 2. Mal vorgenommen werden konnte. Immerhin gestatten die Experimente gewisse Schlußfolgerungen (Tabelle).

Von den 4 Tieren, die auf kutanem Wege nachgeimpft worden sind, liegen für 3 die vollständigen Resultate vor. Diese Resultate sind aber, wie aus der Tabelle hervorgeht, ungleichmäßig. In dem einen Falle (Nr. 1) ist durch die Revakzination keine irgendwie erkennbare verstärkte Virulizidie hervorgerufen worden. Das Tier hatte auf die erste Impfung mit 5 gut entwickelten Impfpusteln reagiert, nur ein Impfschnitt war nicht angegangen. Der nach 46 Tagen mit seinem Serum vorgenommene virulizide Versuch lieferte ein negatives Resultat, indem die Serumverdünnung von $^1/_{10}$ sich als wirkungslos erwies. Stärkere Konzentrationen wurden nicht geprüft, so daß möglicherweise eine schwache Virulizidie bestanden haben könnte. Die Wiederimpfung verriet durch ihren Verlauf noch eine deutliche Immunität des Tieres. Nur 3 Impfschnitte zeigten eine zweifelhafte Reaktion, die 3 übrigen blieben reaktionslos. Eine Neubildung von viruliziden Antikörpern war aber damit offenbar nicht verbunden, denn das Serum beeinflußte in der Verdünnung 1:5 des Vakzinevirus in keiner Weise. Bei einem anderen Tier (Nr. 3) war das Resultat

Tabelle.

	1. Impfung	Resultat	1. virulizider Versuch	2. Impfung	Resultat	2. virulizider Versuch
	Auf d. rechten Rückenseite 6 flache Impfschn. je 1 cm lang; Lymphe unverdünnt	5 Pusteln gut entwickelt	Prüfung des Serums 46 Tage nach der Impfung: 1:10 = +++ 1:20 = +++ 1:50 = ++++ Kontr. = ++++	56 Tage nach der 1. Impfung 6 flache Impfschnitte (unverdünnt. Glyzerinlymphe) auf der linken Rückenseite	3 Schnitte reaktionslos, 3 zweifelhafte Papeln	Prüfung des Serums 15 Tage nach der zweiten Prüfung: 1:5 = +++ 1:20 = +++ 1:50 = +++ Kontr. = +++
	wie Nr. 1	6 gut entwickelte Pusteln	Prüfung des Serums 46 Tage nach der Impfung: 1:10 = ++ 1:20 = ++ 1:50 = +++	wie Nr. 1	2 Papeln, 4 Schnitte vorübergehend gerötet (Frühreaktion)	—
	wie Nr. 1	4 gut entwickelte Pusteln, 2 kl. Pusteln	Prüfung des Serums 52 Tage nach der Impfung: 1:10 = ++++ 1:20 = ++++ 1:50 = ++++ Kontr. = ++++	wie Nr. 1	1 zweifelhafte Papel, 1 Schnitt mit Frühreaktion, 4 Schnitte ohne Reaktion	Prüfung des Serums 21 Tage nach der zweiten Impfung: 1:10 = + 1:20 = +++ 1:50 = +++ Kontr. = +++
4	wie Nr. 1	6 gut entwickelte Pusteln	Prüfung des Serums 52 Tage nach der Impfung: 1:10 = +++ 1:20 = +++ 1:50 = ++++	wie Nr. 1	2 zweifelhafte Papeln, 4 Schnitte ohne Reaktion	Prüfung des Serums 21 Tage nach der zweiten Impfung: 1:5 = + 1:10 = ∓ 1:20 = + 1:50 = +++ Kontr. = +++
5	Auf d. Innenfläche des r. Ohres 6 Impfschn.; unverdünnt. Glyzerinlymphe	Starke Reaktion, 4 Pusteln, 2 Papeln	Prüfung des Serums 61 Tage nach der Impfung: 1:10 = +++ 1:20 = +++ 1:50 = +++ Kontr. = +++	63 Tage nach der 1. Impfung 6 Impfschnitte auf der Innenfläche des linken Ohres	Keine Reaktion	—
6	wie Nr. 5	Starke Reaktion, 4 Pusteln, 2 Papeln	Prüfung des Serums 54 Tage nach der Impfung: 1:10 = +++ 1:20 = +++	wie Nr. 5	5 Schnitte fast ohne Reaktion, 1 zweifelhafte Papel	1:5 = +++ 1:10 = ++++ 1:20 = ++++ 1:50 = ++++ Kontr. = ++++
7	wie Nr. 5	Mittelstarke Reaktion, 2 gut entwick. Papeln, 4 kl. Papeln	Prüfung des Serums 54 Tage nach der Impfung: 1:50 = ++++ Kontr. = ++++	wie Nr. 5	1 zweifelhafte Papel, 2 Schnitte infiltriert, 3 Schnitte fast reaktionslos	—

günstiger, indem immerhin eine deutliche Verstärkung der Virulizidie als Folge der Revakzination beobachtet werden konnte. Die Erstimpfung hatte an allen 6 Impfschnitten Pusteleruption ergeben, bei der nach 56 Tagen erfolgenden Revakzination zeigte sich nur an einem Impfschnitt eine zweifelhafte Papel, an einem anderen Schnitte eine Frühreaktion, die übrigen Impfstellen blieben reaktionslos. Das

Serum des Tieres hatte kurz vor der 2. Impfung in der Verdünnung 1:10 keine Spur von virulizider Wirkung geäußert, schwächte aber 21 Tage später das Vakzinevirus sehr stark ab. Also ohne Frage eine erhöhte Virulizidie. Allerdings hielt sich diese Wirkung innerhalb enger Grenzen, denn bei weitergehender Verdünnung des Serums (1:20) versagte sie. Kann man also in diesem Falle von einer zwar deutlichen, aber doch nur mäßigen Steigerung der viruliziden Serumkräfte sprechen, so war sie bei dem 3. Tier (Nr. 4) sehr ausgesprochen. Nach der Revakzination, und zwar 21 Tage später, ergab der virulizide Versuch für die Serumverdünnung 1:5, 1:10 und 1:20 eine starke antivirulente Wirkung, so daß die Serum-Lymphemischungen nur ganz schwache Reaktionen an der Kornea hervorriefen, während vor der Revakzination die gleichen Serumverdünnungen (1:10 und 1:20) sich als völlig unwirksam erwiesen hatten. Hier war somit die Nachimpfung von einer kräftigen Antikörperbildung begleitet, obwohl sie, ähnlich wie bei den beiden ersterwähnten Tieren, nur an 2 Impfstellen zu einer schwachen und zweifelhaften Reaktion geführt hatte, an den übrigen Impfstellen reaktionslos geblieben war. Das 4. Tier dieser Versuchsgruppe (Nr. 2), an dem eine Serumprüfung nach der Revakzination nicht vorgenommen werden konnte, weil es inzwischen eingegangen war, und das deshalb für die Frage nach der antikörpersteigenden Wirkung der Revakzination ausscheidet, wäre auch aus einem anderen Grunde zur Beantwortung dieser Frage nicht maßgebend in Betracht gekommen. Denn dieses Tier hatte stärker reagiert als die übrigen Kaninchen und, als einziges, auch bei der Wiederimpfung 2 typische Papeln bekommen. Diese Art der Reaktion hätte also ohne weiteres auch eine erneute Antikörperbildung erklärt und wäre für unsere Fragestellung, inwieweit auch bei reaktionslosem, zum mindesten nicht zu Pustel- oder Papelbildung führenden Verlauf der Revakzination im Blute virulizide Antikörper neu auftreten, nicht einwandfrei zu verwerten gewesen. Es geht daraus jedenfalls hervor, daß die Immunität, wie sie bei der von mir geübten Art der Kutanimpfung hervorgerufen wird, nur mäßigen Grades ist. Dies möchte ich betonen, weil es für die Deutung meiner Versuchsergebnisse von Interesse zu sein scheint.

Ueber die 3 Tiere, bei denen Vakzination und Revakzination an den Ohren vorgenommen wurden, läßt sich kurz berichten. Nur eines von ihnen ist 2mal auf Virulizidie des Blutes untersucht worden, wobei sich keinerlei Wirkung ergab (Verdünnungen 1:5 bzw. 1:10); also die Nachimpfung, die so gut wie reaktionslos verlaufen war, hatte nicht zur Neubildung von Antikörpern geführt, die Sera der beiden anderen Tiere konnten nach der Revakzination nicht mehr untersucht werden. Das eine von ihnen erwies sich bei der Revakzination, die 63 Tage nach der 1. Impfung vorgenommen wurde, als völlig immun, indem an den neuen Impfstellen überhaupt keine Reaktion auftrat, das andere zeigte eine geringere Immunität. Also wiederum ein Zeichen, daß die Impfung in kleinen Hautschnitten beim Kaninchen keine hochgradige Immunität erzeugt.

Zusammenfassend wäre somit über die mitgeteilten Resultate zu sagen, daß sich in einem Falle trotz fast reaktionslosen Verlaufs der Wiederimpfung eine verstärkte Virulizidie des Blutes nachweisen ließ; noch bis zur Verdünnung 1:20 war das vor der Revakzination wirkungslose Serum imstande, das Vakzinevirus erheblich zu schädigen.

In einem anderen Falle schien die Revakzination gleichfalls eine erneute Antikörperbildung anzuregen, doch war hier der Einfluß nicht sehr stark. Diese beiden positiven Befunde zeigen jedenfalls, daß eine verstärkte virulizide Wirkung des Blutserums auch dann auftreten kann, wenn die Revakzination der immunisierten Tiere mit sehr geringen Virusmengen vorgenommen wird. Es darf nicht wunder nehmen, daß dieser Effekt in meinen Versuchen sich nur unregelmäßig äußerte und mitunter ganz ausblieb — wie die negativen Befunde an mehreren Tieren beweisen —, denn der primäre Immunitätszustand der vakzinierten Kaninchen war verhältnismäßig schwach, und ebenso übte natürlich die Nachimpfung mit kleinen Dosen einen wesentlich schwächeren Reiz aus als die sonst bei Kaninchen benutzte Art der Hautimpfung in langen Skarifikationsschnitten. Wenigstens entspricht diese Erscheinung durchaus dem, was wir über die Bedeutung der quantitativen Verhältnisse bei Vakzination und Revakzination für den Immunitätsgrad des Individuums wissen. Es galt ja bei meinen Versuchen vor allem, eine grundsätzliche Entscheidung darüber herbeizuführen, ob die antikörpersteigernde Wirkung der reaktionslos verlaufenden Revakzination nur dann eintritt, wenn große Mengen von vorgebildetem Antigen verwendet werden, oder ob nicht auch die Infektion mit kleinen Virusmengen gleiches zu leisten vermag. Der Verlauf meiner Versuche zeigt, daß das letztere zutrifft.

Vielleicht wäre es möglich, die Wirkung der Revakzination bei Anwendung kleiner Virusmengen zu verstärken und deutlicher hervortreten zu lassen, wenn man den Tieren von Anfang an durch eine starke Impfung einen hohen Immunitätsgrad verleiht. Man könnte dann wohl die Antikörperbildung schon durch einen schwachen Reiz besser auffrischen und auch nachhaltiger gestalten. Die Versuche sollen nach dieser Richtung ergänzt werden.

Literatur.

Fujii, Zeitschr. f. Immun.-Forsch. Orig. Bd. 33. 1922. — Gins, Hyg. Rundsch. 1919.; Med. Klin. 1922. — Haendel, Berl. klin. Wochenschr. 1921. S. 1366. — Jürgens, Med. Klin. 1920. — Paschen, Dtsch. med. Wochenschr. 1922. Nr. 30. — Paul, Wien. med. Wochenschr. 1915. — v. Pirquet, Münch. med. Wochenschr. 1911. — Sato, Zeitschr. f. Immun.-Forsch. Bd. 32. 1921. — Sobernheim, Dtsch. med. Wochenschr. 1921. Nr. 24. — Schneider, Zeitschr. f. Immun.-Forsch. Orig. Bd. 38. 1923.

Nachdruck verboten.

Ueber das Verhalten der viruliziden Antikörper im Blute des revakzinierten Kaninchens.

[Aus dem Institut zur Erforschung der Infektionskrankheiten in Bern (Direktor: Prof. G. Sobernheim).]

Von Dr. **S. Kohno.**

Der zuerst von Sato[1]) erhobene Befund, daß auch eine reaktionslos verlaufende Revakzination im Blute des vakzineimmunen Kaninchens virulizide Antikörper in größerer Menge neu auftreten

1) Zeitschr. f. Immun.-Forsch. Bd. 32. 1921.

läßt, war nicht ohne weiteres auf den revakzinierten Menschen zu übertragen. Da die Kutanimpfung des Kaninchens in der üblichen Weise durch ausgedehnte Skarifikation der Rückenhaut bewirkt worden war, so wurden hier ungewöhnlich große Virusmengen dem Körper einverleibt, wie sie bei der Impfung des Menschen auch nicht im entferntesten zur Anwendung gelangen. Man mußte daher an die Möglichkeit denken, daß eine solche Impfung schon genügende Mengen eines präformierten Antigens dem Körper zuführt, eine eigentliche Infektion mit Vermehrung des Virus also gar nicht mehr einzutreten braucht. Indessen haben die ebenfalls aus dem hiesigen Institut hervorgegangenen Experimente von Yonezawa[1]) dargetan, daß diese Annahme doch nicht zutrifft. Auch bei Verwendung kleiner Virusmengen und kleiner Impfschnitte für die Vakzination und Revakzination der Kaninchen konnte bei einzelnen Tieren, nach reaktionslosem Verlauf der Revakzination, eine gesteigerte Virulizidie des Blutes festgestellt werden. Die

Ta-

Kaninchen Nr.	Gewicht in g	I. Hautimpfung (4—5 lange Skarifikationsschnitte)			I. virulizider Versuch nach der I. Hautimpfung: 9. 7. (nach 64 Tagen)		II. virulizider Versuch nach der I. Hautimpfung: 5. 8. (nach 91 Tagen)	
		Datum	Impfmaterial	Reaktion	Impfmaterial: Immunserum + Glyzerinlymphe 1 : 50	Reaktion an der Kaninchenkornea	Impfmaterial: Immunserum + Glyzerinlymphe 1 : 50	Reaktion an der Kaninchenkornea
1	1570	6. 5.	unverdünnte Glyzerinlymphe (Nr. 180)	Papeleruption, Pustelbildung	Serum 1 : 5	—	Serum 1 : 10	++++
					„ 1 : 10	—	„ 1 : 50	++++
2	2350	„	desgl.	desgl.	„ 1 : 5	—	„ 1 : 10	+++
					„ 1 : 10	—	„ 1 : 50	++++
3	2380	„	„	„	„ 1 : 5	—	„ 1 : 10	++++
					„ 1 : 10	—	„ 1 : 50	++++
4	2030	„	„	„	„ 1 : 5	—	„ 1 : 10	++++
					„ 1 : 10	—	„ 1 : 50	++++
5	2170	„	„	„	„ 1 : 5	—	„ 1 : 10	++++
					„ 1 : 10	—	„ 1 : 50	++++
6	1600	„	„	„	„ 1 : 5	—	„ 1 : 10	—
					„ 1 : 10	—	„ 1 : 50	+
7	2200	„	„	„	„ 1 : 5	—	„ 1 : 10	++++
					„ 1 : 10	—	„ 1 : 50	++++
8	1500	„	„	„	„ 1 : 5	—	—	.
					„ 1 : 10	++	—	.
9	1950	„	„	„	„ 1 : 5	—	„ 1 : 10	++++
					„ 1 : 10	—	„ 1 : 50	++++
10	1750	„	„	„	„ 1 : 5	+	—	.
					„ 1 : 10	+	—	.

1) Vgl. die vorstehende Arbeit.

Ergebnisse waren indessen nicht ganz gleichmäßig, und es bot bei der wissenschaftlichen und praktischen Bedeutung, die dieser Frage zukommt, immerhin Interesse, die Experimente noch weiterhin zu ergänzen.

Yonezawa hatte in seinen Versuchen die gleiche Impftechnik angewendet wie beim Menschen. Die Vakzine wurde von ihm bei Impfung und Wiederimpfung in 6 kleinen, ca. 1 cm langen Impfschnitten auf die Haut verimpft, teils am Rücken, teils an der Innenfläche der Ohren. Hierdurch wurde absichtlich nur eine schwache Infektion gesetzt, demgemäß aber auch nur eine schwache Immunität erzielt, und es kam infolgedessen auch nur zu beschränkter Antikörperbildung im Blute der Tiere. Der Gedanke lag nahe, die Versuchsanordnung dahin zu modifizieren, daß man den Tieren von vornherein durch kräftige Impfung eine starke Immunität verleiht, die mit reichlicher Antikörperbildung einhergeht, und daß man lediglich für die Revakzi-

belle.

II. Hautimpfung				Virulizider Versuch nach der II. Hautimpfung (nach 16 bzw. 18 Tagen)		
Datum	Impfmaterial	Art der Impfung	Reaktion	Datum	Impfmaterial: Immunserum + Glyzerinlymphe 1:50	Reaktion
8. 8.	unverdünnte Glyzerinlymphe (Nr. 230)	6 Impfschnitte (ca. 1 cm) am Ohr	—	24. 8.	Serum 1:10 „ 1:50	— ++++
„	desgl.	desgl. am Rücken	—	„	„ 1:10 „ 1:50	— —
„	„	desgl.	—	„	„ 1:10 „ 1:50	— ++++
„	„	„	—	„	„ 1:10 „ 1:50	— —
„	„	desgl. am Ohr	—	„	„ 1:10 „ 1:50	— —
„	„	desgl.	—	„	„ 1:10 „ 1:50	— —
„	„	desgl. am Rücken	—	„	„ 1:10 „ 1:50	— ++++
19. 8.	unverdünnte Glyzerinlymphe (Nr. 180)	desgl.	—	5. 8.	„ 1:5 „ 1:10	— —
8. 8.	desgl. (Nr. 230)	desgl. am Ohr	—	24. 8.	„ 1:10 „ 1:50	— ++++
19. 7.	desgl. (Nr. 180)	desgl. am Rücken	—	5. 8.	„ 1:5 „ 1:10	— —

nation den milden Infektionsmodus wählt. Die Hoffnung, daß sich auf diese Weise konstante Resultate und kräftigere Wirkungen bei

der Revakzination erzielen lassen, hat, wie wir sehen werden, sich in der Tat erfüllt.

Die Experimente, die ich auf Anregung von Herrn Prof. Sobernheim unternommen habe, erstreckten sich auf 10 Kaninchen. Es wurden hierfür besonders kräftige Tiere ausgewählt im Gewicht von durchschnittlich 2000 g. Alle Tiere wurden zunächst, nach der üblichen Vorbereitung der Rückenhaut, auf der rechten Seite in einer gewissen Zahl (4—5) parallel verlaufender Skarifikationsschnitte von 10—15 cm Länge kräftig mit virulenter Vakzine infiziert. Die Vakzine wurde mittels Platinöse auf die Schnitte gebracht und dann mit dem sterilen abgerundeten Ende eines Glasstabes gut eingerieben. Nach Ablauf der Reaktion blieben die Tiere zunächst längere Zeit unbehandelt, und es wurde nur durch wiederholte Prüfung ihres Serums im viruliziden Versuch der Zeitpunkt ermittelt, an dem sich wieder eine starke Abnahme der viruliziden Antikörper bemerkbar machte. Dies war nach ca. 3 Monaten der Fall. Hierauf wurde die Wiederimpfung vorgenommen, nun aber in der Weise, daß die Eintragung der Lymphe in die Haut mit der infizierten Lanzette in 6 kurzen, ca. 1 cm langen Impfschnitten erfolgte. Bei 4 Tieren wurde die Innenfläche eines Ohres, bei den 6 übrigen Tieren die linke Seite des Rückens gewählt. Nach 16 Tagen wurde dann abermals das Serum auf Antikörpergehalt im viruliziden Versuch geprüft. Die Technik des viruliziden Versuchs, wobei Mischungen verschiedener Serumverdünnungen mit der 1:50 verdünnten Lymphe auf die Kaninchenkornea verimpft wurden, war die gleiche, wie sie von Sato[1]), Fujii[2]), Schneider[3]) usw. angewendet worden ist. Es sei daher auf diese Arbeiten verwiesen.

Die Resultate meiner Experimente finden sich in der folgenden Tabelle verzeichnet.

Es geht daraus zunächst hervor, daß alle 10 Tiere auf die 1. Impfung in typischer Weise mit intensiver Papel- und Pusteleruption reagiert haben. Demgemäß äußerte auch das Serum der Kaninchen 64 Tage später in den Verdünnungen 1:5 und 1:10 meist noch eine so starke Wirkung, daß die virulente Vakzine vollkommen unwirksam gemacht wurde. Nur bei 2 Tieren (Nr. 8 und 10) war die virulizide Kraft des Serums etwas schwächer. Erst nach 91 Tagen hatte der Antikörpergehalt des Serums erheblich abgenommen, die geprüften Serumverdünnungen (1:10 und 1:50) erwiesen sich bei allen Tieren, mit einer Ausnahme, als wirkungslos. Die hierauf ausgeführte Wiederimpfung verlief durchweg reaktionslos. Sowohl die am Ohr als auch die am Rücken geimpften Kaninchen zeigten nur eine unbedeutende, rein traumatische Rötung, sonst keinerlei spezifische Impfreaktion. Die Immunität der Tiere war also, wie ja kaum anders erwartet werden konnte, gegenüber der schwachen Nachinfektion eine vollständige. Die 16—18 Tage nach der Revakzination untersuchten Sera äußerten nun aber wieder eine sehr beträchtliche virulizide Kraft. Die meisten Tiere lieferten ein Serum, das in den Verdünnungen 1:10 und 1:50 im Mischungsversuch das Vakzinevirus vollkommen abtötete und somit für die Kaninchenkornea avirulent machte. Nur in 4 Fällen war die antivirulente Wirkung des Serums etwas schwächer und lediglich in

1) l. c.
2) Zeitschr. f. Immun.-Forsch. Bd. 33. 1922.
3) Ebenda. Bd. 38. 1923.

der Verdünnung 1:10, nicht aber 1:50, nachweisbar. Indessen trat auch hier der verstärkende Einfluß der Revakzination klar und einwandfrei zutage.

Das Resultat ist somit vollkommen eindeutig. Bei allen zehn Tieren wurde durch die reaktionslos verlaufende Nachimpfung eine erhebliche Steigerung der viruliziden Kräfte des Serums erzielt, obwohl die Nachimpfung in milder Form mit kleinen Impfschnitten und geringen Vakzinemengen ausgeführt worden war. Die Versuche bestätigen also das, was sich schon aus den Versuchen Yonezawas entnehmen ließ, daß tatsächlich ganz geringe Virusmengen genügen, um die verloren gegangenen bzw. latent gewordenen Antikörper des vakzineimmunen Kaninchens wieder neu und in größeren Mengen im Blute auftreten zu lassen. Wenn in dem vorliegenden Experimente diese Tatsache regelmäßig und mit großer Deutlichkeit in die Erscheinung tritt, so liegt dies, wie wir von Anfang an vermuteten, offenbar daran, daß die 1. Impfung eine starke Infektion gesetzt hatte, die eine entsprechend starke Immunität und die Entwicklung beträchtlicher Mengen von Antikörpern bedingte. Zur Auffrischung der Antikörperbildung durch die Revakzination genügte in diesem Falle dann schon ein geringer Reiz, der bei primär nur schwach immunisierten Tieren, wie die Versuche von Yonezawa gezeigt haben, schwächere und unregelmäßige Wirkung entfaltet.

Die Bedingungen, unter denen die Revakzination der immunisierten Tiere ausgeführt wurde, nähern sich den Verhältnissen bei der Revakzination des Menschen doch so weit, daß man eine Uebertragung der im Kaninchenexperiment gewonnenen Ergebnisse auf den Menschen gewiß nicht mehr abzulehnen braucht. Wenigstens ist das Hauptbedenken, das in dem so großen Unterschiede der verwendeten Virusmengen bestand, durch diese Versuche beseitigt. Man wird daher annehmen dürfen, daß ganz wie im Kaninchenversuch auch bei dem Menschen die Revakzination selbst dann eine Verstärkung der Virulizidie des Blutes und damit der Immunität des Individuums zur Folge hat, wenn die Revakzination ohne Pustelbildung und lediglich unter dem Bilde der Frühreaktion verläuft. Dabei gehe ich freilich von der Ansicht aus, daß eine Vermehrung der viruliziden Antikörper zugleich der Ausdruck einer verstärkten Immunität ist. Nach den Untersuchungen von Fujii scheint indessen der Mensch überhaupt nicht mit der gleichen Regelmäßigkeit und Stärke virulizide Antikörper gegen die Vakzine zu bilden, wie das Kaninchen, und selbst bei wiederholt geimpften und hochimmunen Menschen übt das Serum gewöhnlich nur eine schwach antivirulente Wirkung auf die Vakzine aus. Der Einfluß der Revakzination auf die Neubildung virulizider Antikörper trat in seinen Experimenten nicht einheitlich und überzeugend zutage. Doch sprechen die unlängst von Goerttler[1]) mitgeteilten Beobachtungen über das Verhalten der viruliziden Stoffe im Serum revakzinierter Menschen dafür, daß tatsächlich die Antikörper nach der Revakzination regelmäßig gesteigert im Serum erscheinen, und zwar unabhängig von der Stärke der Reaktion. Ließ sich dieser Nachweis beim Menschen wegen der geringen Wirksamkeit der Antikörper auch nur mit einer verfeinerten Methodik erbringen, so besteht doch in

1) Zeitschr. f. Immun.-Forsch. Bd. 38. 1923.

prinzipieller Hinsicht Uebereinstimmung zwischen dem Kaninchenexperiment und dem Verhalten des Menschen.

Zusammenfassung.

Es wird gezeigt, daß vakzineimmune Kaninchen durch eine reaktionslos verlaufende Revakzination regelmäßig zur Neubildung beträchtlicher Mengen von viruliziden Antikörpern veranlaßt werden. Die Revakzination wurde, wie beim Menschen, in Form kleiner Impfschnitte und mittels geringer Virusmengen vorgenommen. Auch bei reaktionslosem Verlauf führt die Revakzination — des Kaninchens und des Menschen — vermutlich zu einer Steigerung der Immunität.

Nachdruck verboten.

Ueber die Verwendbarkeit des Peptonum sicc. Riedel für bakteriologische Zwecke.

[Aus dem Hygienischen Institut der Universität Berlin (Direktor: Prof. M. Hahn).]

Von Dr. **Walter Strauß,** Assistent am Institut.

In Kürze seien hier Versuche mit einem von der Firma J. D. Riedel A.-G., Berlin, aus Fibrin hergestellten, in der bakteriologischen Praxis bisher nicht benutzten Pepton wiedergegeben, deren Ergebnis so günstig ausfiel, daß uns — bei dem auch heute noch starken Bedürfnis nach Ersatzstoffen für das teure Witte-Pepton — ein kurzer Hinweis auf dieses Präparat wohl gerechtfertigt erscheint.

Mit dem unter der Bezeichnung „Peptonum siccum für Nährböden Riedel" im Handel erhältlichen Präparat wurden zahlreiche, weiter unten aufgeführte Nährböden hergestellt. Alle diese Nährböden hatten ein klares Aussehen, unterschieden sich in keiner Weise von den gleichzeitig mit Witte-Pepton hergestellten Kontrollen. Streng wurde auf genaue Uebereinstimmung der Versuchs- und Kontrollnährböden in der — nach Michaelis bestimmten — H-Ionenkonzentration geachtet. Im einzelnen wurde untersucht:

a) Wachstum von Ty.-, Paraty.-, Ruhr-, Coli-Bazillen, Choleravibrionen, Tuberkel- und Diphtheriebazillen; auf den üblichen Nährböden (Bouillon, Agar, Endo-Agar, Choleraagar, Peptonwasser, Glyzerinagar, Loeffler-Serum) Bei schätzungsweiser Prüfung durch das Auge war keinerlei Unterschied im Oberflächenwachstum wahrnehmbar. Auch eine quantitative Prüfung der Wachstumsmenge (gleiche Mengen Bakterienaufschwemmung in Bouillon 24 Std. bebrütet und in Trommsdorff-Röhrchen auszentrifugiert) ließ keinerlei Abweichung der Versuchs- von den Kontrollröhrchen erkennen. Im gefärbten Präparat zeigten die auf den verschiedenen Nährböden gezüchteten Bakterien stets gleich gute typische Formen.

b) Farbstoffbildung von Prodigiosus- und Pyocyaneus-Kulturen. Der Pyocyaneus-Stamm war auf Riedel-Nährboden etwas kräftiger gefärbt, sonst keinerlei Unterschied.

c) Chemische Prüfung: Die Indolbildung von Choleravibr. in Peptonwasser und von Coli-Bazillen in Bouillon, die Gasbildung von Coli-Baz. und Anaërobiern in Traubenzuckerbouillon fielen in Versuchs- und Kontrollröhrchen gleichmäßig gut aus. Ebenso zeigte sich

d) die hämolytische Wirkung von Streptokokken auf Blutagarplatten gleich stark.

e) Auch die antigenen Funktionen der auf Riedel- und Witte-Nährböden gezüchteten Bakterien wiesen keine Differenzen auf. Geprüft wurde die Agglutinationsfähigkeit von Ty.-Baz. und Choleravibr. und die Komplementbindungsreaktion mit Choleravibr.

Eine exakte Untersuchung über Diphtherie-Toxinbildung mußte aus Sparsamkeitsrücksichten unterlassen werden. Ein mit 4 Tieren angestellter orientierender Versuch ließ auf eine ungeschwächte Toxinproduktion schließen.

Wir glauben hiernach sagen zu können, daß das Pepton siccum Riedel angesichts des wesentlich geringeren Preises (Februar 1924 pro Kilogramm 32,50 G.-Mk., Witte-Pepton 70 Mk.) für den Laboratoriumsgebrauch durchaus geeignet ist.

Nachdruck verboten.

Die Eignung verschiedener Peptonpräparate für bestimmte bakteriologische Zwecke.

[Aus dem Hygienisch-bakteriologischen Institut des Hauptgesundheitsamtes der Stadt Berlin.]

Von Dr. **Fritz von Gutfeld,** wissenschaftlichem Mitglied.

Für die Praxis der bakteriologischen Diagnostik stellt das Pepton einen der wichtigsten Nährbodenbestandteile dar. Unter Pepton ist in diesem Zusammenhange kein chemisch genau definierter Körper zu verstehen, sondern vielmehr ein Produkt, das durch fermentativen Abbau hochmolekularer Eiweißsubstanzen gewonnen ist und gewisse charakteristische Reaktionen gibt. In Deutschland wurde bis vor dem Kriege fast ausschließlich Witte-Pepton in den bakteriologischen Laboratorien gebraucht. Infolge seines hohen Preises wurden während des Krieges mehrfach Verfahren beschrieben, die eine billige Selbstherstellung zum Ziel hatten. Auch wir arbeiten seit einigen Jahren mit einem nach der Vorschrift von Steusing (1) selbst hergestellten Ersatzpräparat, das sich als Zusatz zu den gewöhnlichen Nährböden gut bewährt. Nur zur Bereitung der Eijkman-Lösung für den Coli-Nachweis benutzten wir auch nach Einführung des selbsthergestellten Peptons das Originalpräparat von Witte.

Als wir im Verlauf einer Arbeit (2) über den Nachweis fäkaler Verunreinigung in Wasserproben versuchten, die Eijkman-Lösung mit selbsthergestelltem Pepton zu bereiten, fiel uns auf, daß Kontrollen, die echte Coli-Stämme enthielten, keine Vergärung bei 46° zeigten. Bei der guten Brauchbarkeit, die der Peptonersatz bei allen anderen Nährböden bewiesen hatte, glaubten wir den Grund für das Fehlresultat nicht ohne weiteres in unserem Pepton suchen zu müssen, sondern vielleicht in einer mangelhaften Beschaffenheit der beiden anderen Komponenten: Traubenzucker und Kochsalz. Die chemische Analyse der beiden Substanzen ergab aber ihre vollkommen einwandfreie Beschaffenheit, so daß hierdurch ebenso wie durch Vergleichsuntersuchungen mit Witte-Pepton erwiesen war, daß die selbstbereitete Peptonlösung zur Herstellung von Eijkman-Lösung ungeeignet ist. Es ist als N-Quelle offenbar nicht ausreichend, den Coli-Bazillen die

an und für sich schon schwierige Vergärung des Traubenzuckers bei 46° zu ermöglichen.

Zur Aufklärung dieser Verhältnisse gingen wir daran, einmal unser Pepton durch Anwendung verschiedener Mengen und Zusätze für unsere Zwecke brauchbar zu machen, ferner neu im Handel erschienene Peptone auf ihre Eignung zu prüfen sowie endlich eine andere Art der Peptondarstellung zu versuchen.

I. Versuche mit selbsthergestelltem Pepton (Methode von Steusing).

Mit dem nach Steusing selbsthergestellten Pepton haben wir 11 Versuche angestellt. Zu jedem Versuch wurde eine frisch bereitete Lösung benutzt. Zur Einsaat bedienten wir uns verschiedener echter Coli-Stämme, die sämtliche typische Merkmale, wie wir sie in unserer oben erwähnten Arbeit angegeben haben, aufwiesen. Die Vergärbarkeit der traubenzuckerhaltigen Lösungen wurde im Brutschrank bei 46° geprüft. Die Versuchslösungen wurden in verschiedenen Konzentrationen hergestellt: 1) konstante Mengen Dextrose (1 Proz.) und Kochsalz (0,5 Proz.) mit steigenden Peptonmengen (0,4—17 Proz.) zeigten niemals Vergärung. Auch Veränderungen der Wasserstoffionenkonzentration durch Zusatz von Natronlauge ($p_H = 7{,}4$—8,2 nach Michaelis bestimmt) änderten nichts am negativen Ausfall der Gärprobe. Nur ein einziges Mal bekamen wir Vergärung, nachdem wir eine abnorm große Bazillenmenge zur Einsaat benutzt hatten. In jedem unserer Versuche — auch der noch zu beschreibenden — setzten wir eine mit Coli beimpfte Kontrolle mit einer Eijkman-Lösung an, die in den vorgeschriebenen Konzentrationen Dextrose (1 Proz.), Kochsalz (0,5 Proz.) und Witte-Pepton (1 Proz.) enthielt. Diese Kontrolle ergaben stets einwandfreie Gärung.

2) Variation des Kochsalz- und Dextrosegehaltes unserer verschieden konzentrierten Peptonlösungen ergab ebenfalls keine Gasbildung durch Bact. coli bei 46°.

3) Ein Zusatz von Witte-Pepton zu der mit selbsthergestelltem Pepton bereiteten Eijkman-Lösung ergab Vergärung. Die zu prüfende Stammlösung enthielt: Selbsthergestelltes Pepton 5 Proz., Witte-Pepton 5 Proz., Dextrose 10 Proz., Kochsalz 5 Proz. Sie wurde noch in der Verdünnung 1:8 vergoren (d. h. selbsthergestelltes Pepton ca. 0,6 Proz., Witte-Pepton 0,6 Proz., Dextrose 1,25 Proz., Kochsalz ca. 0,6 Proz.). Die gleichzeitig bereiteten Kontrollösungen 10 Proz. Pepton, 10 Proz. Dextrose, 5 Proz. Kochsalz zeigten folgendes Verhalten: Die Eijkman-Lösung mit Steusing-Pepton blieb in allen Verdünnungen unverändert. Die mit Witte-Pepton wurde bis zur Verdünnung 1:15 vergoren. Diese Verdünnung enthält Witte-Pepton ca. 0,7 Proz., Dextrose ca. 0,7 Proz., Kochsalz ca. 0,35 Proz. Die Vergärung der beide Peptone enthaltenden Mischlösung war demnach nur durch die Gegenwart des Witte-Peptons ermöglicht.

4) Nachdem sich gezeigt hatte, daß das nach Steusing bereitete Pepton zur Herstellung brauchbarer Eijkman-Lösungen unzureichend ist, versuchten wir, es durch verschiedene Zusätze geeignet zu machen. In erster Linie wurde hierbei an vitaminhaltige Substanzen gedacht, da ja die Möglichkeit vorlag, daß durch die eingreifenden Prozesse der Pepsinverdauung (Salzsäure!) und das Eindampfen der Lösung solche Stoffe zerstört worden wären. Daß Vitamine unter Umständen das

Wachstum und die Lebenstätigkeit von Bakterien beeinflussen können, ist bereits bekannt. Neuerdings hat besonders Tinti (3) über wachstumsfördernde Wirkungen von Vitaminen (Karottensaft, Hirnsaft, Zitronensaft, Lebertran) bei hämoglobinophilen Bakterien berichtet. Wir haben zu unserem selbsthergestellten Pepton Zusätze von Karotten- und Tomatenpreßsäften (roh und gekocht) gegeben. In einigen Versuchen wurde die so hergestellte Eijkman-Lösung durch Coli vergoren, in anderen wieder nicht. Eine Regelmäßigkeit des Reaktionsausfalls wurde jedenfalls nicht erzielt; immerhin scheinen die Ergebnisse darauf hinzuweisen, daß durch die Technik von Steusing irgendwelche Stoffe zerstört werden, deren Fehlen sich erst bei so anspruchsvollen biologischen Reaktionen, wie sie die Traubenzuckervergärung bei 46° darstellt, bemerkbar macht.

Wie verhalten sich demgegenüber andere Peptone des Handels?

II. Versuche mit Handelspeptonen.

Die in den letzten Jahren von verschiedenen Firmen in den Handel gebrachten Peptone sind bereits von anderen Autoren geprüft worden. So berichten Kister (4) und Joetten (5) über gute Erfahrungen mit Hefepepton der Firma Brunnengräber, Heuer (6) ebenfalls in günstigem Sinne über Peptone von Knoll und von Wülfing. Die genannten Autoren haben besonders Wachstumsversuche angestellt und zum Teil durch Grenzwertbestimmungen (Heuer) auf quantitative Differenzen gefahndet. Wilcox (7) hat den Einfluß der Peptonart auf die Giftbildung der Tetanusbazillen untersucht und dabei die Ueberlegenheit des Witte-Peptons gegenüber anderen (z. B. Martin-Pepton, Paris) festgestellt. Die Prüfung mittels der Eijkmanschen Probe versprach ebenfalls, qualitative Differenzen aufzudecken, die sich durch die gewöhnlichen Wachstumsprüfungen nicht nachweisen ließen.

1) Witte-Pepton. Die seit mehreren Jahren mit Witte-Pepton bereiteten Eijkman-Lösungen haben fast niemals versagt. Eine eingehendere Prüfung der Konzentrationsverhältnisse zeigte, daß für die Praxis eine Lösung mit 1 Proz. Witte-Pepton, 1 Proz. Traubenzucker und 0,5 Proz. Kochsalz fast immer geeignet ist. Mitunter ergaben auch Lösungen geringerer Dosen ausreichende Vergärung (0,67 Proz. Pepton und Dextrose, 0,33 Proz. Kochsalz), einige Male mußte zu stärkeren Konzentrationen (1,67 Proz. Pepton und Dextrose, 0,84 Proz. Kochsalz) gegriffen werden.

2) Pepton „Knoll". Nach Angabe der Firma, die uns im September 1922 ihr Präparat zur Verfügung stellte, entspricht 1 g Pepton „Knoll" einem Gramm Witte-Pepton. Mehrfach angesetzte Versuchsreihen ergaben, daß Eijkman-Lösungen mit einem Gehalt von 0,5 bis 4,5 Proz. Knoll-Pepton durch Bacterium coli bei 46° nicht vergoren wurden. Nur in 1 Versuche trat bei einem Peptongehalt von 1 und 2 Proz. nach 48stünd. Aufenthalt bei 46° Gasbildung auf. Zusatz von Vitaminen (Preßsäfte von Tomaten und Mohrrüben roh und gekocht) vermochten nicht, die mit Knoll-Pepton hergestellten Eijkman-Lösungen brauchbar zu machen.

3) Das Hefepepton „Pepkam" wurde von der Firma Brunnengräber im August 1922 zu Versuchszwecken bezogen. Die Firma teilte auf ausdrückliche Anfrage mit, daß 1 g „Pepkam" imstande sei, 1 g Witte-Pepton zu ersetzen, daß sogar Hefepepton in vielen

Fällen noch ergiebiger sei. Zur Herstellung von Eijkman-Lösung erwies sich die seinerzeit gelieferte Probe als ungeeignet, trotzdem in verschiedenen Versuchsreihen die Mengenverhältnisse der einzelnen Komponenten weitgehend variiert wurden. Auch der Zusatz verschiedener Mengen gekochten Mohrrübenpreßsaftes änderte nichts an diesem Verhalten. Ein später von der Firma verbessertes Präparat haben wir nicht mehr geprüft.

4) Anfang März 1923 erhielten wir Proben eines „Peptonum siccum" und „Peptonum liquidum 10 Proz." der Firma L. W. Gans mit der Angabe, daß 10 g des 10proz. Peptons 1 g Witte-Pepton entsprechen. Die mit den beiden Präparaten hergestellten Eijkman-Lösungen zeigten eine Wasserstoffionenkonzentraton $p_H = 7{,}4$ (Peptonum siccum) und 7,8 (Peptonum liquidum). Das Trockenpepton gab keine gärfähige Lösung (verschiedene Mengen Trockenpepton, 1 Proz. Dextrose, 0,5 Proz. Kochsalz), das flüssige Pepton versagte in einem Versuche fast völlig, in einem anderen zeitigte es schwach vergärbare Eijkman-Lösungen.

Da sich, mit Ausnahme des teueren Witte-Peptons, die von uns geprüften Peptone des Handels sämtlich als ungeeignet zur Herstellung von Eijkman-Lösungen erwiesen hatten, versuchten wir selbst die Herstellung eines billigen Ersatzes für Witte-Pepton.

III. Versuche zur Selbstherstellung von Pepton.

In der Annahme, daß die bei saurer Reaktion vor sich gehende Pepsinverdauung wichtige Bestandteile der abzubauenden Eiweißstoffe zerstört, wählten wir zunächst eine Verdauungsart, bei der keinerlei künstliche Zusätze zwecks Reaktionsänderung des Milieus erforderlich sind:

1) In Petri-Schalen erstarrtes Pferdeserum wurde mit einer Aufschwemmung eines gewöhnlichen Proteus-Stammes beimpft und 5 Tage bei 37° gehalten. Im Laufe dieser Zeit wurde das Serum allmählich verflüssigt, „peptonisiert". Die abgegossene Flüssigkeit wurde zentrifugiert und filtriert; das Filtrat enthält ca. 15 Proz. Pepton (bestimmt mittels Salzsäure-Phosphorwolframsäurefällung). Die Reaktion ist $p_H = 8{,}3$. Nach dem Sterilisieren wird mit destilliertem Wasser verdünnt, so daß ein Peptongehalt von 5 Proz. resultiert. Verschiedene Mengen dieses Peptons zu einer Lösung von 1 Proz. Dextrose und 0,5 Proz. Kochsalz in Aq. dest. ergaben keine brauchbare Eijkman-Lösung. Hingegen gelang es, durch Abstumpfen der Alkalität mittels Salzsäure bis auf p_H-Werte von etwa 7,4 das Pepton einigermaßen brauchbar zu machen. Die verhältnismäßig umständliche Art der Darstellung, die geringe Ausbeute sowie die nicht genügend zuverlässige Brauchbarkeit bestimmten uns, diese Methode zu verlassen.

2) Wir gingen dann dazu über, tryptische Fermente in schwach alkalischer Lösung zur Verdauung zu benutzen. Nach einer Reihe von Vorversuchen mit verschiedenen Präparaten und wechselnden Ergebnissen fanden wir schließlich im Pankreatin der Chemischen Fabrik Rhenania ein für unsere Zwecke brauchbares Präparat. Versuche zur Nährbodenbereitung unter Verwendung von Pankreatin sind bereits vor mehreren Jahren von Hottinger (8) angestellt worden. Er benutzte Fleisch als Ausgangsmaterial. Die von ihm gewonnenen Nährsubstrate waren zur Züchtung der verschiedensten Bakterienarten

gut geeignet; Coli bildete Indol, Pyocyaneus sowie Prodigiosus erzeugten Farbstoff. Die Verdauung beanspruchte bei Zimmertemperatur mindestens 5 Tage, bei 37° etwa 2 Tage. Eine Erwärmung über 40° hält Hottinger für schädlich.

Wir haben als billiges Ausgangsmaterial erstarrtes Pferdeserum, Pferdeblutkuchen sowie Menschenblutkuchen (Reste der zur WaR. eingesandten Blutproben) zu unseren Versuchen benutzt. Als Verdauungstemperatur wählten wir 46°, um ein Wachstum der etwa im Ausgangsmaterial vorhandenen Keime zu unterdrücken. Es gelang uns, aus sämtlichen Substraten Abbaustoffe zu gewinnen, die zur Bereitung von Eijkman-Lösung vorzüglich geeignet waren. Im einzelnen gingen wir folgendermaßen vor:

Pferdeblutkuchen wird mit Wasser überschichtet, etwa 20—30 Min. im Autoklaven bei $^1/_5$ Atm. Ueberdruck gehalten, in kleine Würfel von etwa 1 cm Seitenlänge zerschnitten. Die kleinen Stücke werden mit Leitungswasser gewaschen, dann mit der 1- bis 2fachen Menge Leitungswasser aufgekocht und nach Abkühlung ohne Alkalibeigabe mit einer Messerspitze Pankreatin versetzt. Nach 24 Std. Aufenthalt bei 46° wird die Flüssigkeit abfiltriert und sterilisiert. Sie gab gewöhnlich noch in 40facher Verdünnung positive Biuretreaktion, p_H schwankte bei den verschiedenen Versuchen zwischen 7,4 und 7,8. Läßt man die Verdauung mehrere Tage fortschreiten, so ist das erhaltene Produkt weniger gut brauchbar. Eine bessere Ausnutzung des zu verdauenden Substrates erhält man, wenn man nach 24stünd. Verdauung die überstehende Flüssigkeit abgießt, die unverdauten Reste gründlich mit Leitungswasser wäscht und von neuem mit Wasser und Pankreatin versetzt. Dies Verfahren kann man 2—3mal wiederholen.

Die Prüfung geschah folgendermaßen: Es wurde ein Gemisch hergestellt, das in 10 ccm Volumen 0,1 g Dextrose, 0,05 g Kochsalz und steigende Mengen unseres meist etwa 5proz. Peptons enthielt. In fast allen Fällen genügte der Zusatz von 1 ccm Peptonlösung (= ca. 0,5 Proz.), um eine Gärung zu veranlassen, die der einer Eijkman-Lösung mit 1 Proz. Witte-Pepton gleichwertig war. Wir halten diese biologische Art der Einstellung des Peptons in unserem Falle für zweckmäßiger, als die Bestimmung des Peptongehalts mittels Salzsäure-Phosphorwolframsäurefällung und Angabe des Prozentgehalts der zu verwendenden Konzentration. Aus den oben geschilderten Versuchen mit Steusing-Pepton geht ja auch hervor, daß nicht allein der Gehalt an Substanzen, die durch Salzsäure-Phosphorwolframsäure gefällt werden, für die Brauchbarkeit ausschlaggebend ist, sondern daß noch andere Stoffe, die wir nur auf biologischem Wege messen können, für die Verwendbarkeit des Peptons von Bedeutung sind.

Das durch Pankreatinverdauung aus Pferdeblutkuchen hergestellte Produkt ist auch vorzüglich geeignet, als Ersatz für Witte-Pepton zur allgemeinen Nährbodenherstellung, ebenso gestattet es in geeigneten Verdünnungen gute Indolbildung durch Bact. coli und Choleravibrionen. Mit unserem Präparat bereitete Bouillon ist ein guter Nährboden für Streptokokken; Agar mit unserem Peptonersatz erlaubt den Farbstoffbildnern Prodigiosus und Pyocyaneus üppiges Wachstum und intensive Farbstoffbildung bereits nach 24 Std.

Zusammenfassung.

1) Das nach Steusing mittels Pepsinverdauung hergestellte Pep-

ton ist zur Herstellung von Eijkman-Lösung und Vergärung bei 46° unbrauchbar. Zusatz von vitaminhaltigen Substanzen ergab unregelmäßige, praktisch nicht verwertbare Resultate.

2) Von den geprüften Handelspeptonen ist nur Witte-Pepton zur Bereitung der Eijkman-Lösung und Vergärung bei 46° brauchbar.

3) Es wird ein einfaches Verfahren beschrieben, einen vollwertigen Ersatz für Witte-Pepton im Laboratoriumsbetrieb selbst herzustellen.

Literatur.

1) Steusing, Wien. klin. Wochenschr. 1919. S. 858. — 2) v. Gutfeld, Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 91. 1924. S. 346. — 3) Tinti, Ebenda. Bd. 90. 1923. H. 6. — 4) Kister, Ebenda. Bd. 87. 1921. H. 6. — 5) Joetten, Arb. a. d. Reichsgesundheitsamt. Bd. 52. 1920. H. 2. — 6) Heuer, Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 90. 1923. H. 6. — 7) Wilcox, Journ. of Bact. Vol. 6. 1921. No. 4. — 8) Hottinger, Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 67. 1913. H. 3.

Nachdruck verboten.

Weiterer Beitrag zur Blut- und Blutprotozoenfärbung (Toluidinblau-Eosin).

[Aus der protozoologischen Abteilung des Instituts für Infektionskrankheiten Elias Metschnikow in Moskau (Direktor: Prof. Dr. S. Korschun. Abteilungsleiter: Dr. H. Epstein.)]

Von Dr. **H. Epstein.**

In meiner Arbeit über die Blutfärbung mit Toluidinblau[1]) — Lithiumcitrat — Ac. picronitricum (1922) betonte ich schon, daß die Kerne der erwachsenen Malariaschizonten und der Gameten sich bei dieser Methode viel zu blaß färben, und zwar desto blasser, je älter das entsprechende Plasmodium ist.

Später überzeugte ich mich, daß dasselbe auch für die Kerne und den Randfaden der Trypanosomen gilt. Auch die Färbung der Azurgranulationen, sowohl wie die der Leukozytenkerne ließ noch manches zu wünschen übrig.

Nach einer Reihe von Versuchen, mit dieser Methode dem Endresultat des echten Romanowsky-Effektes näher zu kommen, wurde es für mich aber ganz klar, daß in dieser Richtung nicht mehr viel zu erwarten wäre, weil für das Zustandekommen des echten Romanowsky-Effektes die metachromatische Wirkung des Toluidinblau-Lithiumzitrat bzw. anderer metachromatisch färbender (resp. azurhaltiger) Tiazofarbenderivate allein bei weitem nicht ausreicht; vielmehr wäre hier das Zusammenwirken mit Eosin, resp. mit einer anderen entsprechenden Verbindung, erforderlich.

1) In dieser Arbeit brachte ich keine näheren Angaben über die zu verwendende Marke des Toluidinblau, da in allen mir zugänglichen Quellen immer nur einfach von einem Toluidinblau die Rede war. Jedoch wird von der Firma Gruebler zweierlei Toluidinblau in den Handel gebracht: 1) ohne eine besondere Bezeichnung, und 2) mit der Bezeichnung „n. Hoyer". Für unsere beiden Methoden, sowohl mit Pikrinsäure wie auch mit Eosin, eignet sich ausschließlich nur die letztere Marke. Die Sache wird aber dadurch kompliziert, daß die genannte Sorte manchmal auch ohne entsprechende Markierung in den Handel gelangt. Es ist deshalb jedes Toluidinblau, welches diese Bezeichnung nicht führt, vorher auf sein Tinktionsvermögen in einer Lithiumzitratlösung zu prüfen.

Ich arbeitete auch eine entsprechende Methode aus, die dem Cl. Schillingschen Borax-Methylenblau-Eosin-Verfahren recht nahe steht.

Dabei hat sich herausgestellt, daß für ein solches Vorgehen sich eben die Toluidinblau-Lithiumcitratlösung besonders gut eignet, da diese Lösung neutral ist und daher keine Blauüberfärbung der Zellelemente verursacht, wie es die gewöhnlichen alkalischen Lösungen des Methylen- und des Toluidinblau zu tun pflegen.

Auch hat es sich erwiesen, daß beim Zusammenbringen von 0,5 bis 1,5proz. Toluidinblau-Lithiumzitratlösungen mit 0,01—0,05proz. Eosinlösungen man die verschiedensten Farbeffekte erzielen kann. So gibt eine Mischung von 1 Proz. Toluidinblau mit 0,01—0,02 Proz. Eosin eine typische Romanowsky-Färbung. Bei genau derselben Konzentration des Eosin, aber bei stärkeren Konzentrationen des Toluidinblau (bis 1,5 Proz. und mehr) kommt zwar der Romanowsky-Effekt noch zustande, doch verändert sich der ganze Charakter des Präparates, indem die blauen Töne die Oberhand erhalten.

Umgekehrt treten bei der Beibehaltung der ursprünglichen Konzentration des Toluidinblau (1 Proz.), aber bei stärkeren Konzentrationen des Eosin (bis 0,04—0,05 Proz.) wieder die roten Nuancen in den Vordergrund, was sich besonders scharf an den Erythrozyten und den eosinophilen Granulis bemerken läßt. Aber je stärker die Konzentration des Eosin, desto schwächer wird der Romanowsky-Effekt, insofern er sich in der Färbung der Kerne und der Azurgranulationen äußert, und schließlich wird er gänzlich durch den ebenso typischen May-Grünwald-Effekt ersetzt mit ausgesprochen neutrophilen und eosinophilen Granulationen und mit blassen Leukozytenkernen.

Somit sehen wir, daß für das Zustandekommen des Romanowsky-Effektes das Toluidinblau und das Eosin in einem Verhältnis von 0,5:0,01 bis 1,5:0,05, also von 50:1 bis 30:1 zueinander stehen müssen. Es wäre demnach zu erwarten, daß das Endresultat der Färbung mit den absoluten Mengen der verwendeten Komponenten in keinem Zusammenhang stände, doch hat es sich erwiesen, daß, wenn auch das Verhältnis der Farben das ausschlaggebende Moment ist, doch auch die absoluten Mengen nicht in ihrer Bedeutung zu unterschätzen sind, was auf den teilweise adsorptiven Charakter der sich dabei abspielenden Prozesse hindeuten mag. Kürzer gesagt, es gilt bei demselben Verhältnis (50—30:1) ein Optimum der absoluten Mengen der beiden Komponenten, bei welchem die Färbungsresultate die besten sind.

Unsere Beobachtungen haben uns auch die Möglichkeit gegeben, etwas tiefer in den physikalisch-chemischen Sinn der Romanowsky-Färbungen einzublicken.

Bekanntlich wird der Romanowsky-Effekt in den Präparaten durch Säuren zerstört, wodurch die blauen Töne der Färbung zum Schwund gebracht werden.

Derselbe Effekt, und zwar binnen weniger Minuten, kann auch durch die Behandlung des nach Romanowsky gefärbten Präparates mit einer sehr schwachen (0,01proz.) Eosinlösung erzielt werden, also bei einer Konzentration, wo von einer Wirkung des Eosin als einer Säure kaum die Rede sein kann (Essigsäure wirkt in der genannten Konzentration viel schwächer und langsamer). Unter Einwirkung des Eosin verschwindet der Romanowsky-Effekt binnen weniger Minuten und wird durch den May-Grünwald-Effekt ersetzt.

Die beschriebenen Vorgänge erwecken vielfach den Gedanken einer gewissen Analogie mit manchen Beizenfärbungen und berechtigen uns gewissermaßen zu einer Vorstellung von dem ganzen Prozeß als einer Lackfärbung.

Somit gestaltet sich die Methode folgendermaßen:

Fixation wie gewöhnlich. Färbung 15—60 Min.[1]) in Petri-Schalen mit dem Ausstriche nach unten in einer Mischung gleicher Teile von 2 gleichzeitig zuzugießenden Lösungen: Lösung (A): Toluidinblau 1,0; Lithiumzitrat 1,0; Aq. dest. 100,0. Durch ein feuchtes Filter filtrieren. Cave: Alkalien, Säuren. — Lösung (B): Eosin B. A. 0,016proz. wässerige Lösung. (Die besten Resultate für histologische wie für parasitologische Zwecke werden bei den Konzentrationen des Eosin von 0,01—0,03 Proz. erzielt. Für verschiedene spezielle Zwecke können verschiedene Konzentrationen des Eosin — in den hier angedeuteten Grenzen — erforderlich sein.) Auswaschen unter der Leitung. Trocknen mit Filtrierpapier.

Wenn wir die auf diese Weise erhaltenen Präparate mit Giemsa-Präparaten vergleichen, so fallen uns 3 Umstände besonders ins Auge: 1) daß die Toluidin-Lithiumzitratlösung, mit Eosin gemischt, auch an und für sich das Protoplasma und die Nukleolen der Zellen nicht rein blau färbt, sondern mit einem Stich ins Violette. Dadurch kommen manche Einzelheiten, so z. B. die Nukleolen der Lymphoidozyten, nicht so klar zum Vorschein wie bei der Giemsa-Färbung, da sie sich nicht so scharf von dem rotvioletten Hintergrund der Kernfärbung abheben. 2) daß das Protoplasma mancher Zellen, wie der Lymphoidozyten, Monozyten und großen Lymphozyten, nach dieser Färbung etwas mehr grobkörnig erscheint als nach der Giemsa-Färbung. So erhält man das Bild einer mehr gelockerten Anordnung der basoplasmatischen Substanz des Zellprotoplasmas. 3) sieht man, wenn die Kernsubstanz auch sehr leuchtende Farbtöne aufweist, ihre Struktur dennoch etwas gröber und mehr verschwommen als bei der reinen Giemsa-Färbung. Dies fällt besonders an solchen leptochromatischen Kernen ins Auge, wie sie die Lymphoidozyten zeigen (resp. Myeloblasten). Die unter 2) und 3) angeführten Umstände sind wohl auf gewisse Eigenschaften der Farbmolekel des Toluidin-Lithiumzitrat zurückzuführen.

Die aufgezählten Nachteile erlauben mir nicht, die beschriebene Methode als einen unbedingten Ersatz für die Giemsa-Färbung zu empfehlen. Trotzdem scheint sie allen Hauptanforderungen an eine gute Blutfärbung zu entsprechen, indem sie sämtliche Granulationen in den Leukozyten und auch alle Tüpfelungen und Punktierungen in den Erythrozyten vorzüglich färbt. Auch kommen dabei die leichtesten Schwankungen der Polychromatophilie der Erythrozyten wie der Basophilie der weißen Zellen zum Ausdruck. — Ganz besonders gut färben sich mit dieser Methode die Blutprotozoen.

Literatur.

Epstein, Arch. Soc. russe de Protistol. T. I. 1922. p. 106; T. II. 1923. p. 312; Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 88. 1922.

1) Ausstriche mit stärkerem Chromatingehalt (leukämisches Blut, Kaltblüter- und Vogelblut) sollen nicht weniger als 1 Std. lang gefärbt werden, ev. unter 2—3-maligem Farblösungswechsel.

Nachdruck verboten.

Method of counting, culture medium and pure cultures of soil Amoebae.

[From the Bacteriological Agricultural Experiment Station of Moscow.]

By **L. B. Severtzoff.**

Ever since the protozoology of soil, that new branch of soil biology, was first studied, i. e. during the last twenty years, one of the most common lines of investigation has been to determine the number of Protozoa living in different soils. But unfortunately the results of this quantitative work have not been hitherto satisfactory, and we cannot to day, count soil Protozoa with the same precision as soil Bacteriae.

Till the present day the determination of the number of Protozoa present in soil was generally made by three different methods.

1) Francé [1912, 1921 (1)] and A. Koch [1915 (2)] employed the method of direct counting of a drop of soil infusion by means of a microscope, noticing the number of cysts and determining the species of Protozoa. Without any doubt that is theoretically the best method of counting, but practically it may be adapted only to the soil especially rich in Protozoa, which is not the case of the russian arable soils.

2) The second method of counting soil Protozoa is a simple modification of the common dilution method generally used for the bacteriological work, but adapted to the liquid instead of solid media, and in consequence considerably less precise. This method has been employed by Killer [1913 (3)], Rhann [1913 (4)], Cunningham [1913—1914 (5)] and Schermann [1914 (6)]. As it is known it was to inoculate liquid medium with small portions (one cubic centimeter) of soil infusion of many different dilutions. As for the media, the investigators have commonly used bloodmeal, hay infusion and other well known liquid media, employed by Hiltner, Giltay, Omeliansky etc. etc. for investigation of nitrification, denitrification, ammonification, cellulose decomposition, Nitrogen assimilation and other analogous processes in the soil. But no one of these media was satisfactory for the growth of soil Protozoa. The advantages and the weaknesses of the dilution method of counting soil Protozoa are too well known to need much discussion. Its greatest weakness results from the absence of media especially adapted to the growth of particular groups of soil Protozoa; moreover a medium largely adapted for the growth of the greatest part of Protozoa (as beef-extract-peptone agar is adapted to the growth of the most part of bacteriae) is also wanting. Another weakness of this method consists in the fact that like the mentioned below third method, it is an indirect method of counting: it is based upon two unjustified assumptions: firstly, that Protozoa are well separated from each other in the dilutions and secondly, that every portion of soil dilution contains only a single individual capable to multiply when mixed with the culture medium, whilst in reality, using liquid instead of solid media we cannot know the number of Protozoa in each dilution the results being similar when a single or a hundred Protozoa were primarily inoculated in the tubes.

3) The third method of counting is employed by Cutler [1920 (7)]. Using solid instead of liquid medium, Cutler nevertheless conserves the previous technique and inoculates the surface of the congealed agar plates with a whole cubic centimeter of many different soil dilutions. Then he incubates the plates, as usually, at 22° C and counts during 28 days. He cannot therefore obtain the localization of separate Protozoa in different points on the plate and the development of each

separate organism into a definite colony, which takes place for the Bacteriae and allows their usual enumeration in solid media.

Thus we see that even though we pessess to day a whole literature dealing with different methods of counting soil Protozoa in general, nevertheless till the present days there is no work dealing especially with counting of differents kinds of soil Protozoa separately. The present investigation is a study of the method to count a single kind of Protozoa — the Amoebae — in the soil. The proposed method is not yet entirely satisfactory and the results are to be considered as merely preliminary, but they are published as an aid to others who are striving after satisfactory media and methods of counting for soil protozoological work.

To have a correct knowledge of the quantity of Amoebae living in the soil we must formerly obtain a culture medium allowing the growth of the greatest possible number of soil Amoebae. But no such a medium has as yet been found perfectly satisfactory. The single suitable medium is that of Frosh [1897 (8)] and Mouton [1902 (9)] which recomanded it for obtaining the so called „cultures pures mixtes", consisting exclusively of Amoebae and of a pure culture of Bacteriae to feed them. Mouton prepared his medium as follows: he dissolved 10 gr. of agar in 100 c. c. of ordinary beef-extract-peptone diluted with 900 c. c. of water. When the medium is ready it is poured out on the plates, and when congealed its surface is inoculated with B. coli commune and with a very small portion of soil; then Amoebae begin to develop upon the plates. But Mouton's medium is not satisfactory enough to be utilised for the counting of Amoebae in the soil: it is too high in organic matter, that is the reason why the colonies of B. coli and Amoebae, produced upon it, are not sufficiently distinct: we must have a very poor development of Bacteriae to feed Amoebae to obtain distinct colonies of Amoebae, which is a necessary condition for their correct counting in solid media. Having used the Mouton's agar for my preliminary tests I propose now a new medium as most satisfactory for counting soil Amoebae. That is a medium very low in organic matter. It allows the greatest possible number of soil amoebae to develop upon it and the colonies of Amoebae produced upon it are as distinct as possible in appearance. Moreover, the great advantage of this medium is that it allows exclusively Amoebae to be produced upon it, the growth of all other soil Protozoa, if it ever takes place, being suppressed by the growth of Amoebae. So we can say that it is a medium verry attractive to Amoebae and especially adapted for the isolation, growth and count of soil Amoebae. The preparation on this simplest medium is as follows: 20 gr. of agar are dissolved in 1000 c. c. of ordinary tap-water. Boiling, filtration and sterilization are made as usually; the reaction of the medium is neutral and the tubes are to be filled to the half or even three quarters. Then the agar is poured out and when congealed its surface is rapidly inoculated in different places with B. coli. I usually make 10—15 small crosses of this bacterial culture disposing them at equal distance from each other. Thus, the medium is ready for the protozoological quantitative work.

The count of Amoebae is undertaken in the following way. Ten grams of sample of soil is sifted through a very dense sieve and

thoroughly mixed with 90 c. c. of steril tap-water; this soil infusion serves to prepare in the ordinary bacteriological way the series of necessary dilutions. An important point is that we must not inoculate the plate, destinated for protozoological quantitative analize, with large portions of liquid because even the usually admitted cubical quantity, as we shall further see, entirely spoils the picture of the growth of Amoebae upon the plates. So we get all the subsequent series of dilutions not by transferring one cubic centimeter from one dilution to another, but gradually reducing the doses we take for inoculation. For the reader's convenience these doses are brought out in the following table:

To get the dilution	1:100	1:1000	1:2000	1:5000	1:10 000
It is to be taken	0,1 c. c. out of dilution 1:10	0,1 c. c. out of dilution 1:100	0,05 c. c. out of dilution 1:100	0,02 c. c. out of dilution 1:100	0,1 c. c. out of dilution 1:1000
To get the dilution	1:20 000	1:50 000	1:80 000	1:100 000	1:150 000
It is to be taken	0,05 c. c. out of dilution 1:1000	0,02 c. c. out of dilution 1:1000	0,12 c. c. out of dilution 1:10 000	0,1 c. c. out of dilution 1:10 000	0,07 c. c. out of dilution 1:10 000

Thus we see that not one of these doses surpasses the capaciousness of 0,12 c. c. The inoculation of all these portions is made by rapidly touching the centre of each little bacterial cross with a drop hanging at the end of the capillary pipette. In this way we are striving to attain a possibly equal distribution of the inoculation portion amongst 10—15 crosses of B. coli. Then, without turning over the plates, we incubate them at 22° C for six to ten days. The presence of the Amoebae may be stated already the third day, but their perfectly distinct growth appears only on the sixth or even tenth day. If the given dilution of the soil infusion, inoculated amongst the crosses, contained but a single living Amoebae-falling into such a favorable medium as the above described tap-water agar inoculated with B. coli, it would very rapidly multiply. Feeding exclusively on B. coli Amoebae begin to move in compact masses in the direction of the food, that is, from the centre to the edges of the cross. Even with the naked eye we can see whether there are or not Amoebae in the dilution in question. If there are no Amoebae the surface of the bacterial cross remains soft, smooth and shining, if there are any, the borders of the bacterial culture become uneven and the surface dull[1]).

The view of the growth of the Amoebae on the plates is still clearer under the microscope at a weak enlargment: we see then a great accumulation of Amoebae in the central parts of the bacterial

1) The process of the destruction of the bacterial culture by the Amoebae is still clearer if we substitute the uncoloured B. coli commune by the dark red B. prodigiosum, the orange-coloured Staphylococcus or the yellow Sarcina. Here, besides the above mentioned changes in the bacterial culture, we observe also a gradual discoloration of these cultures.

cross, moreover the Amoebae themselves appear as very small, shining globules with strongly marked periphery. These globules at a greater enlargement are nothing else but resting cysts of Amoebae. Being smothered together in consequence of their great accumulation, these cysts change their primitive spherical form and acquire a very characteristic polygonal shape. It is interesting to notice that examining the extremities of the bacterial crosses, i. e. those parts where the food for the Amoebae is still in abundance, we see that Amoebae have not yet encysted; they here appear as small bits of naked protoplasm moving very slowly by means of their blunt pseudopodia; on the posterior part of their protoplasmic body a contractile vacuole is seen.

Returning to the count of Amoebae in the soil, we must notice that reducing the inoculative dose to 0,12 or even to 0,02 c. c. and distributing it amongst the 10—15 crosses, which is only another form of the further reducement of the doses, we try to obtain that if possible only a single Amoebae should fall into the centre of each cross: there, feeding on the Bacteriae prepared for it, it will multiply and give origin to a single colony of Amoebae. Moreover, bringing into the centre of each cross such very small portions of the liquid as the above mentioned, we obtain that the colony of the Amoebae does not spread and remains all the time as distinct as possible in appearance.

On the other side, reducing to the possible minimum the nutritiveness of the nutrient medium upon which Bacteriae grow, we obtain only a very poor culture of them, which is a necessary condition to get only a poor culture of the Amoebae. It is very important for us to obtain just a poor, but distinct colony of Amoebae upon the bacterial crosses, since, if the Amoebae grow abundantly, they begin very often to migrate in different directions beyond the limits of the bacterial crosses, overgrowing the surface of the agar and assailing two, three and even more of the crosses. In these cases we do not know whether the presence of Amoebae in three neigbouring crosses is due to the presence of three Amoebae (or of three groups of Amoebae, which is less possible), fallen into the centre of three bacterial crosses, or this large colony of Amoebae is to be regarded as a posterity of a single Amoebae (or of a single group of Amoebae), largely multiplied upon this especially adapted medium. That is the reason why we cannot utilize the Mouton's agar for counting soil Amoebae: it is a too nutritive medium which allows too great a growth of Amoebae upon it. To determine satisfactorily the number of Amoebae living in the soil we must localize the separate colonies of Amoebae in different points of the plate, which is only possible with a medium really very low in organic matter: it seems to be the case with the medium proposed by us.

The technique used for the count itself is very simple. As we have already said, the plates are incubated at 22° C for six or even ten days. Then we examine them with the naked eye, and, considering the form of the bacterial crosses, the character of the growth and, especially, the colour of the bacterial culture, we directly determine the number of the crosses contaminated with Amoebae in each plate (resp. dilution); in the doubtful cases we have recourse to the aid of a microscope with weak enlargement. Further we do according to

the ordinary bacteriological method generaly used in soil quantitative work: assuming that each bacterial cross when inoculated is contaminated with a single Amoeba, we count the number of crosses contaminated with Amoebae in each dilution; then, as a definitive result we take, as usually, the average of all different dilutions of soil infusion, omiting both last numbers, the minimal and the maximal. Again, it is especially recommended to obtain satisfactory results always to make the plates in duplicate.

But the quantitative results obtained in such a way do not allow us to form an opinion about the biological part of Amoebae in the soil, as far, indeed, as this part depends upon their number in the superficial layers of the soil. It is clear enough that if Amoebae are generally not numerous in the soil, their biological value, as one of the limiting factors in soil fertility [Russel and Hutchinson (10)] must be only null. But if they are numerous, we must take in consideration not the total number of Amoebae living in the soil, but only the number of their active forms, their resting cysts not standing in need of feed being unable to limite the growth of Bacteriae in the soil. On the other hand, the direct examination of the soil under a microscope has shown that in the condition of the normal moisture content Amoebae are found more often in form of cysts than in the active form; moreover each decrease of the moisture content on account of dryness or of frost causes the increase of the number of cysts and the decrease of the number of active forms [Francé (1)].

These considerations are the reason why, enumerating soil Amoebae, we must very often take in consideration also the state of Amoebae in the soil, i. e. count separately the active amoebae and the cysts.

There are some methods to separate active Protozoa from their cysts. D. Cutler [1920 (7)] separated the cysts from the active CProtozoa, adding 2 per cent of HCl to 10 gr. of soil for 24 hours, in consequence, all active forms of Protozoa are killed and all cysts remain alive. Better seems to be the method employed by us and based on the Cunningham's [1913 (5)] study of the effect of the heat upon active forms of Protozoa and cysts. Cunningham found that at 48° C all active Amoebae are killed whilst cysts can withstand 65—70° C and are killed only at 72° C. So, to estimate the number of cysts and of active forms of Amoebae separately, we heat the tubes with all different dilutions just used for the first quantitative analize in the water-bath to 65—70° C: in that way we kill all active Protozoa, including Amoebae, and keep alive only the cysts. Then, precisely in the same way as before new platings are made. The results of this second analyse show the number of cysts per gram of soil. Substracting this number from the number showing the total amount of amoebae per gram of soil, we receive the number of active forms of Amoebae in one gram of soil.

Summarizing all the above results, it seems that the advantages of this new method of counting soil Protozoa are:

1) That, by using this method, we can now count soil Amoebae, isolating this group of Protozoa from the general mass of the remainder of Protozoa; we obtain this isolation using a medium especially adapted to the growth of Amoebae alone and consisting of 2 per cent tap-water agar inoculated with a pure culture of any small, non-spore-forming Bacteriae to feed Amoebae.

2) That, by using this method, we can to-day count soil Amoebae with much more precision, than by using any other method presently employed for counting any groups of soil Protozoa. This greater precision of count is obtained: a) by using in platings very little portions of inoculative doses; b) by using such an adapted to the Amoebae medium that it allows to discover the smallest quantities of Amoebae in the soil; c) by localizing these doses in different points of the plate (10—15 crosses) in consequence of which separation and fixation of possibly minimal groups of Amoebae are obtained.

3) Moreover this method of counting soil Amoebae furnishes a simple and convenient means of testing several samples in a comparatively short time.

The disadvantages of this method of counting are:

1) That the results obtained by its use are not yet sufficiently precise and

2) that it is only a quantitative method and is not satisfactory for qualitative purpose, that is to say, that the colonies produced upon the medium, proposed by us, by different types of soil Amoebae are not sufficiently distinct in appearance, thus, we can count soil Amoebae, but cannot count different kins ol soil Amoebae separately.

Pure culture of soil Amoebae.

The importance of obtaining pure cultures of Amoebae is of too evident and vital necessity for every survey in the domain of soil Protozoology to need much discussion. To get a pure culture of soil Amoebae I proceeded from Mouton's tests for obtaining his „cultures pures mixtes". As regards Mouton, he was in his turn greatly influenced by the remarkable study of Frosh who was striving to obtain pure culture of soil Amoebae at a time (1897), when soil Protozoology, as an independant branch of soil biology, did not yet exist. As it has already been noted, Mouton designated by the name of „cultures pures mixtes" the cultures consisting of Amoebae and of a pure culture of any kind of Bacteriae to feed Amoebae. All attempts to obtain a really pure culture of Amoebae without any Bacteriae have to the present day failed; also failed all essayes to get a pure culture of Amoebae with dead Bacteriae. But Oehler [1919 (11)] succeeded in obtaining a pure culture of two kinds of Flagellates (Bodo and Prowazekia) and one of Ciliates (Colpoda Steinii), feeding them on dead Bacteriae and later even on thoroughly pulverized egg or meat. Further, B. A. Peters [1920 (12)] obtained a really pure culture of Paramaecium in a very complicated liquid growth, medium with different mineral and organic salts.

For my purposes, i. e. to study the biological role of Amoebae in the soil, I needed a pure culture of Amoebae without any Bacteriae. I got such a culture in the following way. Some particles of soil are placed on the surface of an agar plate in the centre of a bacterial star formed by a fresh culture of B. coli. This agar of Frosh and Mouton, being especially adapted to the growth of Amoebe alone, they begin to rapidly multiply and then to move in compact masses along the bacterial radiuses; in this movement they

carry with them a very small number of other Protozoa and a great many other Bacteriae, living in these particles of soil. As Amoebae move along the bacterial radius comparatively rather rapidly and as they suppress by their mass all other Protozoa, if only they be here, we find in the periphery of the plate only Amoebae with a very small admixture of different Bacteriae and, of course, B. coli that is wanted there. To set clear the culture of Amoebae and B. coli from these casual Bacteriae, we transfer some drops of Amoebae from the periphery of this plate to the centre of a fresh plate with an identic bacterial star. When Amoebae attain the periphery of this second plate, we transfer them a new to the centre of a third and then of a fourth similary prepared plate; after that we may be entirely sure that in the periphery of this fourth plate a „culture pure mixte" in the sense of Mouton is found, i. e. a culture consisting exclusively of Amoebae and of B. coli to feed Amoebae. The purity of this culture is certainly controled in the general bacteriological way.

To obtain a steril culture of Amoebae without living B. coli I have developed and modified this Mouton's technique and have dealt as follows: Amoebae were transferred from the periphery of the fourth plate in fresh tubes with Mouton's agar just inoculated with B. coli and were equally spread there. Then the plates are incubated at 22° C for eight days. This time is quite sufficient for Amoebae to overgrow all the surface of the agar in the tube as well as to encyste. Thereupon Amoebae with B. coli were washed away from the surface of the agar and the bacterial emulsion was sterilly transferred into an empty steril tube.

Preliminary tests have shown me, that Amoebae, when encysted, may be easily separated from non-spore-forming Bacteriae, which accompany them, by means of different chemical substances, as toluol, calcium oxyd (CaO), CaS and chlorine (Cl) in the form of water chlorine. Waste-toluol and 10 per cent of Calcium oxyd, added to the bacterial emulsion, kill B. coli or any other non-spore-forming Bacteriae serving to feed Amoebae, and keep alive all cysts of Amoebae, while active forms of Amoebae are most probably also killed. ming Bacteriae is to add 10—15 per mille of chlorine to a fresh A better method to separate cysts of Amoebae from nonspore-foremulsion containing B. coli and cysts of Amoebae. But the best is to add 3—5 per cent of CaS to the same emulsion. Then B. coli is rapidly killed while cysts of Amoebae remain alive and entirely intact. Inoculating a fresh bacterial star with some drops of these cysts, treated in such a manner we obtain a rapid and abundant growth of Amoebae upon the plate. On the other hand, the sterility of these cysts is always controlled in the ordinary bacteriological way. It is very interesting to notice that examining under a microscope a drop of the bacterial emulsion some days after this treatment, when the chlorine or H_2S is completely volatilized, we find many active Amoebae, which move with ecrtain animation. I leave open the uestion wheter the presence of these active Amoebae is due to the following excystment of Amoebae feeding, against many authors' opinion, on dead B. coli, or it is due the fact that not only the cysts, but also the active forms of Amoebae can withstand

this minimal doses of reagent. We must also add, that cysts of Amoebae can withstand also greater quantities of chlorine t 40 per mille.

Examining the emulsion in question after some days more for a second time, we find that all Amoebae have again encysted; in this state they remain, living and steril, an indefinitely long time. For my part, I have used for my tests a four months culture very successfully.

We can also freshen this „Amoebae cysts' pure culture" as I call them, transferring some drops of them, as it is generally dne for ordinary bacterial cultures, to a fresh medium. But in that case the process is a little more complicated than with the Bacteriae, and we here proceed as follows: we transfer some drops of „Amoebae cysts' pure culture to a fresh tube with Mouton's agar just inoculated with B. coli commune, and after eight days, when Amoebae sufficiently multiplied and encysted, we kill B. coli again with 10 per mille of chlorine or with 3—5 per cent of Cas. We can repeat this process if necessary, and, in this manner, we conserve for an indeterminably long time the pure culture of soil Amoebae cysts.

Summing up all above said, we see, that the disadvantages of this method of obtaining a pure culture of Amoebae are quite clear. Its greatest disadvantage is that we have here not an ordinary culture, consisting of active forms and of cysts, like cultures of sporforming Bacteriae, but unfortunately only a culture consisting of cysts alone. My immediate study will be to obtain, parting from these preliminary observations, a really pure culture of active Amoebae. The second disadvantage of this method, demanding further study, is that we deal here with soil Amoebae in general, but not with different kinds of soil Amoebae. To obtain a pure culture of a definite kind of soil Amoebae in the sense of bacterial pure cultures, we must isolate a single individual (like „Einzellenkultur" in Bacteriae and in yeasts) and give it the possibility to multiply, which, after all we have said, is not at all difficult. But notwithstanding the above, mentioned disadvantage of this method we, nevertheless, find now in these „Amoebae cysts' pure cultures", before nothing better is obtained, a sure means for every fruitful study on Amoebae in soil protozoology.

References.

1) Francé, R. H., Das Edaphon. 1921. — 2) Koch, A., Activity of soil Protozoa. (Journ. Agr. Res. No. 15. 1915.) — 3) Killer, Die Zählung der Protozoen im Boden. (Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. 37. 1913.) — 4) Rahn, Zur Schätzung der Anzahl von Protozoen im Boden. (Ebenda. Abt. II. Bd. 36. 1913.) — 5) Cunningham and Löhnis, Studies on soil Protozoa. (Ibid. Abt. II. Vol. 39 and 42. 1913, 1914.) — 6) Schermann, The Number and growth of Protozoa in soil. (Ibid. Abt. II. Bd. 41. 1914.) — 7) Cutler, D., A Method for estimating the number of active protozoa in the soil. (Journ. of Agric. Scienc. Vol. X. 1920.) — 8) Frosch, P., Zur Frage der Reinzüchtung der Amöben. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. 1897.) — 9) Mouton, La digestion chez les Amibes. (Annal. de l'Instit. Pasteur 1902.) — 10) Russel a. Hutchinson, Journ. Agric. scienc. Vol. 3. 1909.) — 11) Oëhler, Flagellaten- und Ciliatenzucht auf reinem Boden. (Arch. f. Protistenk. Bd. 40. 1919. H. 1.) — 12) Peters, R., Nutrition of the protozoa. (Journ. of Physiol. Nr. 53, 54. 1920.)

Nachdruck verboten.

Das „neue" anaërobe Plattenverfahren von O. Saphir.

Entgegnung zum Aufsatz Saphirs in diesem Centralbl. Bd. 91, S. 351.

Von Privatdozent Dr. **M. Knorr,**
Oberarzt an der Bakteriologischen Untersuchungsanstalt Erlangen.

Im Centralblatt für die gesamte Hygiene, Bd. 4. S. 83 habe ich geschrieben: „Für die laufenden Bedürfnisse einer Untersuchungsanstalt, wo man öfters am Tag Platten anlegen muß, ist die in jedem Laboratorium sofort herzustellende Anaërobienschale nach Knorr (175) geeignet, bei der die Absorption des Sauerstoffes erst nach Verschluß der Platte eintritt. Saphir (267) hat anscheinend in Unkenntnis dieses Verfahrens neuerdings ein fast gleiches angegeben und es auch für gut befunden".

Ich muß diesen in meinen „Ergebnissen neuerer Arbeiten über krankheitserregende Anaërobien" geschriebenen Satz aufrecht erhalten und infolge der „Berichtigung" Saphirs noch ergänzen insofern, als Saphir auch neuerdings die einschlägige Literatur noch nicht kennt, wie aus folgendem hervorgeht.

Saphir behauptet 1) daß das von mir angegebene Verfahren ihm keineswegs unbekannt sei, 2) daß er mein Verfahren durchaus nicht für richtig befunden habe, da er sich sonst nicht veranlaßt gesehen hätte, ein anderes zu publizieren:

Dazu bemerke ich, daß im Centralblatt für die gesamte Hygiene unter der Nr. 175 auf meine Veröffentlichung: Beiträge zu bakteriologischen Kulturmethoden, dieses Centralbl. Abt. I. Orig. Bd. 86. 1921. S. 596 verwiesen ist. Dort ist die gleiche Methode beschrieben die Saphir in diesem Centralbl. Bd. 90. 1923. S. 205 veröffentlicht hat. Der geringe, für das Verfahren bedeutungslose, Unterschied besteht nur darin, daß Saphir zur Trennung der Kalilauge vom Pyrogallol einen Pappstreifen, ich einen Glasstreifen verwende.

In der „Berichtigung" verweist nun Saphir auf meine Arbeit: Bacillus teras, ein aus Erde und gleichzeitig aus Punktionsflüssigkeit bei Hämatopneumothorax isolierter Anaërobier, dieses Centralbl. Abt. I. Orig. Bd. 82. 1919. S. 225, die ich unter Nr. 174 im Centralbl. für die ges. Hyg. aufgeführt habe. Saphir hat also nicht richtig nachgeschlagen und es überhaupt nicht der Mühe wert gefunden, vor seiner „Berichtigung" zu meiner Arbeit sich in der Literatur zu unterrichten. So wäre es wünschenswert gewesen, daß Saphir die in der „Berichtigung" vertretene Anschauung, daß er aus den derzeitig notwendigen Sparsamkeitsgründen auf weitere Literaturangaben verzichtet habe, auch bei dieser „Berichtigung" gewahrt hätte.

Es erscheint weiterhin sonderbar, wenn jemand behauptet, die Literatur zu kennen, und dann das Heimsche Lehrbuch der Bakteriologie 2. Aufl. aus dem Jahre 1898 anführt.

Eine andere Auflage kommt nämlich nach der Seitenangabe in diesem Centralbl. Abt. I. Orig. Bd. 90. S. 205. Anm. 1 und der annähernd wörtlichen Zitierung nicht in Frage.

Hätte Saphir die im Jahre 1922 erschienene 6. und 7. Aufl. S. 168 benutzt, dann hätte er sich schon die „Verbesserung" meines Verfahrens ersparen können und dadurch wiederum der derzeitigen Forderung auf möglichste Beschränkung bei Veröffentlichungen Rechnung getragen.

Inhalt.

Brekenfeld, Zur Technik der Anaërobenzüchtung. Einmachegläser als Exsikkatoren zur Anaërobenzüchtung, S. 129.

Danisch, F., Balantidiencolitis kombiniert mit Typhus abdominalis. Bemerkungen zur Biologie und pathogenen Bedeutung des Balantidium coli. Mit 4 Abbildungen im Text, S. 104.

Engering, P., Ueber Variationserscheinungen in der Typhus-Coli-Gruppe, S. 1.

Epstein, H., Beitrag zur zytologischen Diagnose der Lyssa, S. 71.

—, Weiterer Beitrag zur Blut- und Blutprotozoenfärbung (Toluidinblau-Eosin), S. 148.

Galli-Valerio, B., Beobachtungen über Culiciden nebst Bemerkungen über Tabaniden und Simuliden, S. 101.

Gerlach, F., Geflügelspirochätose in Oesterreich. Mit 2 Tafeln, S. 84.

Gutfeld, Fritz v., Die Eignung verschiedener Peptonpräparate für bestimmte bakteriologische Zwecke, S. 143.

Hage, Nachwirkungen der Typhusschutzimpfung im Kriege, S. 9.

Ikoma, Torahiko, Die Bedeutung der Reaktion für Gonokokkennährböden (Zitronensäurenährböden), S. 61.

Knorr, M., Das „neue" anaërobe Plattenverfahren von O. Saphir. Entgegnung zum Aufsatz Saphirs in diesem Centralblatt. Bd. 91. S. 159.

Kohno, S., Ueber das Verhalten der viruliziden Antikörper im Blute des revakzinierten Kaninchens, S. 137.

Mizuhara, H., Ueber den Einfluß der Paratyphaceen auf die Milchzuckervergärung durch B. coli, S. 20.

Patzewitsch, B., u. **Klutscharew, W.,** Meningitis cerebrospinalis bei Pferden, S. 97.

Pesch, Karl L., Untersuchungen zur Einteilung der diphtheroiden Bakterien, S. 27.

Prigge, Richard, Ueber den Toxongehalt des Diphtheriegiftes. Mit 3 Abbildungen im Text, S. 39

Saul, E., Untersuchungen zur Aetiologie und Biologie der Tumoren. XXVI. Mitteilung. Beziehungen der Bakterien zu den Tumoren des Menschen, der Tiere und der Pflanzen. Zusammenfassung. Mit 22 Abbildungen im Text, S 73.

Schiller, Ignaz, Ueber „erzwungene" Antagonisten. II. Mitteilung, S. 124.

Schlunk, Franz, Der Zweck der Katalase bei den Bakterien und ihre Bewertung als Ferment, S. 116.

Severtzoff, L. B., Method of counting, culture medium and pure cultures of soil Amoebae, S. 151.

Strauß, Walter, Ueber die Verwendbarkeit des Peptonum sicc. Riedel für bakteriologische Zwecke, S. 142.

Tomioka, Y., Experimenteller Beitrag zur Frage der Immunität bei Recurrens und ihrer Beeinflussung durch die Salvarsantherapie, S. 41.

Toyoda, Hidezo, u. **Tsuru, Kunitake,** Weitere Untersuchungen zur Bakterizidiefestigkeit des Rotzbazillus, S. 64.

Yonezawa, T., Einfluß der Revakzination auf die virulizide Kraft des Blutes beim vakzineimmunen Kaninchen, S. 131.

Frommannsche Buchdruckerei (Hermann Pohle) in Jena.

Centralbl. f. Bakt. etc. I. Abt. Originale. Bd. 92. Heft 3/4.

Ausgegeben am 15. Juli 1924.

Nachdruck verboten.

Weitere Beiträge zur Kenntnis der Bakterienfermente.

Ueber Katalase und Peroxydase bei Bakterien[1]).

[Bakteriologisches Laboratorium der Biologischen Reichsanstalt für Land- und Forstwirtschaft, Berlin-Dahlem.]

Von **C. Stapp.**

Mit 2 Abbildungen im Text.

Einleitung.

Wieland[2]) konnte den Nachweis erbringen, daß, entgegen den bisher geltenden Anschauungen, nach denen die im organischen Leben vor sich gehenden Oxydationen unter katalytischer Mitwirkung von Sauerstoff aktivierenden Fermenten verlaufen, die Fermentwirkung in einer Aktivierung des Wasserstoffs besteht, der dann gleich nascentem Wasserstoff an geeignete Wasserstoffakzeptoren abgegeben wird. Dabei sollen 2 Wasserstoffatome mit molekularem Sauerstoff als Wasserstoffakzeptor zu Wasserstoffsuperoxyd zusammentreten. Das entstandene Wasserstoffsuperoxyd soll, da es als Akzeptor nicht weiter zu dienen vermag, durch Katalase zerlegt werden, die durch ihre Wirkung einerseits neuen Sauerstoff schafft, und andererseits das für die Zelle giftige Hydroperoxyd beseitigt.

Damit wird die physiologische Bedeutung der Katalasen verständlich, denen man in der Bakteriologie bereits seit langem ein besonderes Interesse entgegengebracht, und die man auch teilweise zur Differentialdiagnose der verschiedenen Bakteriengruppen und -spezies herangezogen hat.

Das letztere würde jedenfalls in noch weit stärkerem Maße der Fall sein können, wenn es gelänge, bei Bakterienspezies, die quantitative Unterschiede im Katalasegehalt im allgemeinen nicht aufweisen, oder besser gesagt, die eine gleich wirksame Katalase, gemessen an der aus Wasserstoffsuperoxyd frei gemachten Gasmenge, besitzen, Verschiedenheiten anderer aber konstanter Art zu erkennen und in dieser Richtung auszuwerten.

Der Zweck der vorliegenden Untersuchungen war jedoch nicht, dieser Möglichkeit im besonderen nachzugehen, es war vielmehr beabsichtigt, ganz allgemein über die Eigenschaften der Bakterienkatalase weiteren Aufschluß zu erlangen.

Die ersten Fragestellungen waren durch das übernommene alte Material gegeben und lauteten: Wie lange behält Bakterienkatalase

1) Die Anregung zu dieser Arbeit ging von Herrn Oberregierungsrat Geheimrat Prof. Dr. Maaßen aus, von dem mir hierfür auch angetrocknetes Bakterienmaterial aus früheren Jahren mit den dazugehörigen Protokollen zur Verfügung gestellt wurde.

2) Wieland, H., Ber. d. Dtsch. Chem. Gesellsch. Bd. 45. 1912. S. 484, 679, 2606; Bd. 46. 1913. S. 3327; Bd. 47. 1914. S. 2085, und Bd. 54. 1921. S. 2353.

in angetrockneten Bakterienkulturen ihre Wirksamkeit? Ist die Art des Eintrocknens von Einfluß? Und ist die Katalaseaktivität unabhängig vom „Leben" der Zelle, wenn man unter „Leben" die Fähigkeit der Weiterentwicklung durch Teilung und Vermehrung bei diesen Organismen versteht.

Daran schlossen die Fragen an: Wirken Salze, vor allem Neutralsalze, stets in gleicher Richtung hemmend bzw. fördernd auf die Katalaseaktivität ohne Rücksicht auf die Bakterienspezies? Wird die Wirksamkeit der Katalase beeinflußt, wenn man vor dem Zusatz des Wasserstoffsuperoxyds einen Gasstrom längere Zeit durch die Bakterienaufschwemmung hindurchschickt? Finden beim Durchleiten von Sauerstoff irgendwelche oxydative Erscheinungen oder beim Hindurchleiten von Wasserstoff Reduktionswirkungen statt, die sich bei der nachfolgenden Zersetzung des Hydroperoxyds auswirken? Ist die Inaktivierungstemperatur für die Katalase bei den nichtsporenbildenden Bakterien stets die gleiche? Enthalten auch Sporen wirksame Katalase und bleibt dieselbe erhalten, wenn man die Sporen, ohne sie dabei abzutöten, bei 100° erhitzt? Sind unter anaëroben Bedingungen gezogene Bakterien stets katalaseärmer als aërob gezüchtete derselben Spezies? Ist das Optimum der Wasserstoffionenkonzentration für die Aktivität der Katalase bei den verschiedenen Bakterienspezies gleich oder wechselnd? Ist die Widerstandsfähigkeit der Bakterienkatalase gegen Säure, Alkali und andere die Katalase schädigende Agentien bei den einzelnen Bakterienspezies verschieden, oder ist die Größe dieser Kraft für die verschiedenen Spezies immer dieselbe?

Mit allen diesen Katalaseversuchen wurden entsprechende Untersuchungen, die Peroxydase betreffend, verbunden. Nun kennen wir eine ganze Reihe von Peroxydasereaktionen, wissen aber, daß, je nach der Anwendung derselben, der Reaktionsausfall verschieden ist, und schließen daraus, daß es mehrere voneinander verschiedene Peroxydasen geben muß. Die Peroxydase, die wir hier allein in Betracht ziehen, ist diejenige, die mit Benzidin-Eisessig und Hydroperoxyd eine positive Reaktion gibt. Zum Peroxydasenachweis in pflanzlichen Geweben haben Raciborski[1]) und Keeble und Armstrong[2]) diese Benzidinreaktion bereits herangezogen; ebenso empfehlen sie Unna[3]) und Schneider[4]). Der die Reaktion auslösende Stoff unterscheidet sich von den „echten" thermolabilen Fermenten durch seine Temperaturresistenz und durch sein Verhalten gegen Alkohol, durch den er nicht fällbar, sondern in saurer Lösung ausziehbar ist. Da man aber auch von rein katalytisch wirkenden „anorganischen Fermenten" spricht [siehe Bredig[5])] und es nach Ansicht von Oppenheimer[6]) nicht möglich ist, „ein Ferment heute anders zu definieren, denn als einen spezifischen Katalysator biologischer Provenienz" so darf man wohl auch in diesem Falle von einem „Ferment" sprechen und hätte

1) Raciborski, M., Bull. Acad. Cracovic. Octobre 1905 (aus Czapek, Biochemie der Pflanze Bd. 3. S. 245).

2) Keeble, F., and Armstrong, S. F., The oxydases of Cytisus Adami. (Proceed. Roy. Soc. of London. Ser. B. vol. 85. 1912. p. 460.)

3) Unna, P. G., Biochemie der Haut. Jena 1913. S. 2.

4) Schneider-Zimmermann, Botanische Mikrotechnik. 2. Aufl. Jena 1922. S. 247.

5) Bredig, G., Anorganische Fermente. Leipzig 1901.

6) Oppenheimer, C., Die Fermente und ihre Wirkungen. 2. Aufl. Leipzig 1913. S. 771.

nur einen Gruppenunterschied zu machen zwischen thermolabilen und thermostabilen Peroxydasen.

Die Untersuchungen über die Katalase wurden so eng mit denen über die Peroxydase verbunden, weil beide Fermente meist zugleich im Bakterienleib vorkommen und deshalb das für die verschiedenen Katalaseversuche vorbereitete Bakterienmaterial sich gleichzeitig auch für die Untersuchungen über Peroxydase eignete und ferner festgestellt werden sollte, ob Beziehungen irgendwelcher Art zwischen beiden bestehen.

Methodik.

Ueber die Methodik ist kurz folgendes zu sagen:

Bei der qualitativen Prüfung auf Katalase wurde in der üblichen Weise eine kleine Menge (etwa 0,5—1 ccm) möglichst konzentrierter Bakterienaufschwemmung oder aber im Reagenzglas angetrocknetes Material mit 1- oder 2-proz. Wasserstoffsuperoxyd, das stets frisch durch Verdünnen chemisch reinen Perhydrols hergestellt war, tropfenweise übergossen und die Entwicklung von Gasblasen beobachtet. Die quantitative Prüfung wurde in Apparaten ausgeführt, wie sie Figur 1 zeigt. Diese Gasbüretten hatten am rechten Schenkel eine Skala, die es gestattete, die Entwicklung von 30 ccm Gas bequem abzulesen; jeder Kubikzentimeter war durch Teilstriche in $^1/_{10}$-ccm eingeteilt. Am gleichen Schenkel, der oben umgebogen war, befand sich einerseits ein birnförmiges Gefäß zur Aufnahme der Bakterienaufschwemmung und des Wasserstoffsuperoxyds, andererseits eine mit Glasstöpsel sicher verschließbare Einfüllvorrichtung. Glasstöpsel und Hals hatten eine miteinander korrespondierende einstellbare kreisrunde Oeffnung. Am linken unteren Schenkel war ein Hahn zum Ablassen des Wassers angeschmolzen. Zum Gebrauch wurde das U-förmige Rohr mit luftfreiem Wasser so weit gefüllt, daß es rechts und links gleich hoch stand und der Meniskus, den ersten Teilstrich der Graduierung erreichte. Dann wurden in das birnförmige Gefäß, wenn nichts anderes ausdrücklich angegeben ist, 1 ccm Wasserstoffsuperoxyd, ebenfalls von bestimmter Stärke, eingefüllt und nach Verschließen mit dem Glasstöpsel vorsichtig durchgeschüttelt. Die Gasbildung erfolgte je nach der Stärke der Katalase verschieden schnell. Die Ablesungen wurden jeweils erst dann vorgenommen, nachdem durch den Hahn am linken Schenkel so viel Flüssigkeit abgelassen worden war, daß das Flüssigkeitsniveau in beiden Schenkeln sich in gleicher Höhe befand.

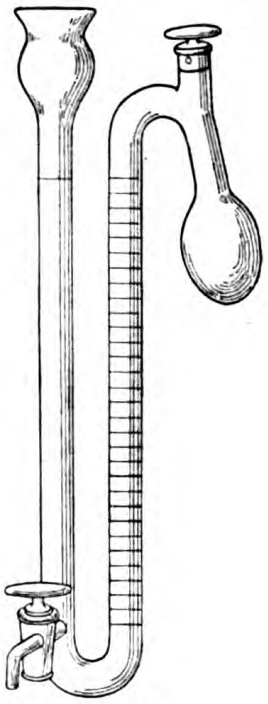


Fig. 1.

Zur Ausführung der Benzidin-Reaktion wurde etwa 0,5—1 ccm der Bakterienaufschwemmung mit der gleichen Menge einer 4-proz. Auflösung von „Benzidin zum Blutnachweis“ Merck in Eisessig gemischt und tropfenweise mit 3-proz. Wasserstoffsuperoxyd vorsichtig überschichtet. Es trat bei positivem Ausfall entweder sofort oder nach wenigen Sekunden ein grüner, blaugrüner oder blauer Ring auf, der sich allmählich verstärkte und dessen Farbe nach einigen Minuten in bordeauxrot umschlug. Man muß sich stets durch einen blinden Versuch vergewissern, ob die Grünfärbung nicht schon durch das zur Bakterienaufschwemmung benutzte Wasser hervorgerufen wird, andererseits ist mit einem geeigneten Testobjekt auch die Brauchbarkeit des Benzidins zu prüfen. Nicht alle von Merck bezogenen Präparate waren für unsere Zwecke geeignet [siehe auch Schumm und Westphal[1])]; manche reagierten nur sehr träge, andere wieder gaben, in Eisessig gelöst

1) Schumm, O., u. Westphal, C., Ueber den Nachweis von Blutfarbstoff mit Hilfe der Adlerschen Benzidinprobe. Zeitschr. f. physiol. Chem. Bd. 46. 1905. S. 510.

und mit 3—5 Tropfen Wasserstoffsuperoxyd versetzt, an sich bereits innerhalb von 45—60 Sek. deutliche Grünfärbungen. Am wenigsten geeignet waren die zur Verfügung stehenden chemisch-reinen Benzidine von Merck. Die Benzidin-Eisessig-Lösung ist nach Möglichkeit nicht länger als 48 Std. aufzubewahren. Vor Lichteinwirkung ist sie zu schützen.

Einfluß des Alters und der Art der Eintrocknung. Wirkung verschiedener Salze.

Zur Beantwortung der zuerst aufgeworfenen Frage nach der Haltbarkeitsdauer der Bakterienkatalase stand mir, wie einleitend erwähnt, abgesehen von dem jungen, altes Material aus 1913 und 1919 zur Verfügung. Das älteste war in der Weise gewonnen, daß 1—2 Tage alte Kolle-Schalekulturen von verschiedenen Nährböden in Erlenmeyer-Kölbchen oder Reagenzgläser abgestrichen und bei Zimmertemp. angetrocknet und aufbewahrt worden waren. Die angetrockneten Kulturen wurden zuerst qualitativ auf Katalase und Peroxydase geprüft, zugleich wurden Abimpfungen auf frische Nährböden gemacht, um über die Lebensfähigkeit der Kulturen Aufschluß zu bekommen (siehe Tabelle I), und anschließend wurden quantitative Bestimmungen der Katalase durchgeführt.

Tabelle I.

Bakterien	Nährböden	Dauer der Züchtung	Bakterienmasse vom	Katalase	Peroxydase	Lebensfähigkeit, geprüft vom 14. bis 22. 5. 1923
Bac. alvei (1912)	Hirnagar	1 Tag bei 37°	13. 12. 13	sehr stark	sehr stark	noch lebensfähig
Vibrio Dunbar	Bouillonagar neutral	1 „ „ 37°	9. 12. 13	sehr schwach	„ „	keine Entwicklung
Vibrio Dunbar	Bouillonagar, neutral, + 2,5% Lithiumchlorid	?	11. 12. 13	„ „	„ „	dgl.
Vibrio Dunbar	Bouillonagar, neutral, + 2% Lithiumchlorid	2 Tage bei 37°	8. 12. 13	„ „	„ „	„
Bac. fluorescens	Bouillonagar + 1-prom. Natriumkarbonat	1 Tag bei 30°	22. 12. 13	schwach	„ „	„
Bac. fluorescens	Bouilonagar, neutral	1 „ „ 30°	3. 12. 13	„	„ „	„
Bac. colicommune	Bouillonagar, neutral	1 „ „ 37°	3. 12. 13	etwas stärker	„ „	„
Streptococcus apis	Bouillonagar, neutral	1 „ „ 30°	3. 12. 13	ziemlich stark	nicht vorhanden	„
Krebspest	Bouillonagar, neutral	1 „ „ 30°	10. 12. 13	nicht nachweisbar	sehr stark	„

Ueber die Konzentration der Aufschwemmung bei allen durchgeführten quantitativen Katalasebestimmungsversuchen sei folgendes gesagt: Wenn der Bakterienabstrich oder -belag einer ganzen Kolle-Schale mit 10 ccm Wasser angeschüttelt bzw. abgeschwemmt war, so wurden die Mischungen $^1/_1$ stark genannt. Wurden 5 ccm angewandt, so resultierte eine $^2/_1$ starke Aufschwemmung, mit 20 ccm Wasser eine $^1/_2$ starke usw. Von diesen Aufschwemmungen bestimmter Stärke wurde je 1 ccm mit 9 ccm Wasser verdünnt und darauf mit 10 ccm Wasserstoffsuperoxyd (wenn nichts anderes angegeben 2-proz.) versetzt, wie bereits erwähnt. Es bezieht sich also die Angabe der Stärke stets auf den einen zur quantitativen Bestimmung angewandten Kubikzentimeter.

Uebergoß man die im Reagenzglas angetrockneten Kulturen vorsichtig direkt mit 2proz. Wasserstoffsuperoxyd, so verriet sich die Anwesenheit von noch aktiver Katalase bei Bac. alvei durch sehr starke, bei Streptococcus apis durch ziemlich starke, bei Bac. fluorescens und Bac. coli durch deutliche, aber schwächere Schaumbildung. Bei Vibrio Dunbar war die Bläschenbildung sehr schwach; die Zusätze verschieden großer Mengen Lithiumchlorid zu den ursprünglichen Nährböden waren ohne sichtbaren Einfluß auf die Katalasewirksamkeitsdauer geblieben. Die Lithiumsalze waren in der Absicht dem Nährboden zugesetzt worden, die Bildung teratologischer Wuchsformen zu begünstigen; es lag nahe, anzunehmen, daß in Kulturen mit zahlreichen derartig degenerierten Zellen die Menge und die Widerstandsfähigkeit der Katalase geringer sein würde. Das obige Ergebnis bringt dafür aber nicht die erwartete Bestätigung. Beim Erreger der Krebspest war nach dieser Zeit keine Katalase mehr nachweisbar.

Von allen diesen Kulturen war nach 10jähr. Aufbewahrungszeit nur noch Bac. alvei lebensfähig. Die mikroskopische Durchsicht der Trockenkultur zeigte vereinzelte Sporen. Abimpfungen in Nährbouillon hatten bereits nach 3 Tagen bei 29° eine deutlich sichtbare Trübung des Substrates hervorgerufen. Ob die wirksame Katalase ihren Sitz ausschließlich in den lebenden Sporen hatte, schien in Anbetracht der geringen Zahl derselben sehr unwahrscheinlich. Unter dem Mikroskop konnte denn auch die Entwicklung von Gasbläschen aus dem Hydroperoxyd durch die Stäbchen und die Sporen beobachtet werden.

Die quantitativen Untersuchungsergebnisse ließen erkennen, daß Bac. alvei noch verhältnismäßig viel wirksame Katalase besaß, die in $^2/_1$ Stärke gut meßbar war.

Vibrio Dunbar, der qualitativ noch eine sehr geringe Gasentwicklung gezeigt hatte, besaß keine in der angegebenen Verdünnung meßbare Katalasewirkung mehr. Auch bei Bac. fluorescens, sowohl dem auf neutralen, wie dem auf natriumkarbonathaltigen Agar gezüchteten Stamm, war die Gasentwicklung in der $^2/_1$ starken Aufschwemmung minimal. Etwas stärker, aber dennoch sehr schwach, war die Gasbildung durch Bac. coli commune in dieser Verdünnung. Bei Streptococcus apis zeigte sich die Katalase in $^4/_1$ starker Aufschwemmung noch derart aktiv, daß immerhin innerhalb von 30 Min. 3,5 ccm und innerhalb 18 Std. 4,2 ccm Sauerstoff gebildet waren, dagegen war bei dem Krebspesterreger in der $^2/_1$ starken Aufschwemmung jede Katalasewirksamkeit erloschen.

Die Benzidin-Eisessigreaktion fiel mit allen Spezies noch stark positiv aus, nur Streptococcus apis gab eine negative Reaktion. Nachprüfungen mit frischer 2 Tage alter Streptococcus apis-Kultur von Bouillonagar ohne Kohlehydrat fielen gleichfalls negativ aus. Eine Grünfärbung trat auch dann nicht ein, wenn man von derselben jungen Kultur Abstriche in Reagenzgläser machte und dieselben vor Versuchsanstellung 24 Std. lang zum Antrocknen bei Zimmertemperatur stehen ließ. Auch Streptococcus-Kulturen von Bouillonagar mit 1proz. Milchzuckerzusatz gaben weder frisch noch angetrocknet die Benzidin-Eisessigreaktion.

Andere Vertreter der Streptokokkaceen verhielten sich analog und es scheint, wie ausgedehnte Untersuchungen an allen zur Verfügung stehenden Bakteriaceen ergaben, nur den Streptokokka-

ceen die mittels der Benzidinreaktion nachweisbare Peroxydase zu fehlen, während sie andererseits eine sehr widerstandsfähige Katalase besitzen, die also nach 10 Jahren, nachdem die Zellen selbst nicht mehr lebensfähig sind, noch eine bemerkenswerte Aktivität zeigt.

Stark geschwächt, aber noch immer wirksam, war die Katalase von Streptococcus apis-Kultur desselben Alters, die vor dem Eintrocknen mit soviel und solange mit Hydroperoxyd behandelt war, bis kein Sauerstoff mehr freigemacht wurde, d. h. bis die Katalase temporär inaktiviert war. Vibrio Metschnikoff und Loefflers Mäuse-Typhusbazillus zeigten nach derselben Vorbehandlung und gleichem Alter keine Spur von Sauerstoffentwicklung mehr. Auch die Benzidinreaktion fiel bei den beiden letzteren nicht mehr, wie es bei den Frischkulturen derselben Spezies stets der Fall ist, positiv aus.

Zur gleichzeitigen genauen Feststellung, ob auch die Art und Weise des Eintrocknens und Aufbewahrens der Kulturen auf die Haltbarkeit und Wirksamkeit der Katalase von nennenswertem Einfluß sein würde, waren mit einigen Spezies nachfolgende Versuche angesetzt worden:

Von Kolle-Schale-Kulturen waren zuerst Aufschwemmungen direkt zur quantitativen Bestimmung der Katalasewirksamkeit verwendet worden (I). Dann war die Bakterienmasse von anderen Kolle-Schalen mit der Oese abgenommen, an die innere Wand von gewogenen Glaskolben abgestrichen und bei Zimmertemp. aufgestellt worden (II). Ferner waren Aufschwemmungen bestimmter Stärke in sog. Maulaffen innerhalb von 2 Tagen über Schwefelsäure im Exsikkator getrocknet, dann mit Watte verschlossen bei Zimmertemp. aufbewahrt worden (III). Weiter waren Aufschwemmungen derselben Stärke wie unter III auf flache Porzellanschalen ausgegossen und im Exsikkator über Schwefelsäure stehen gelassen worden (IV). Endlich waren je 15 ccm Aufschwemmung mit je 1,5 ccm eines Gemisches von Chloroform und Aceton versetzt und in 50 ccm Erlenmeyer-Kölbchen mit Wattebausch verschlossen, bei gewöhnlicher Temperatur aufgehoben worden (V).

Bac. pyocyaneus, Vibrio Dunbar und Staphylococcus albus waren auf Pferdebouillonagar + 1‰ Natriumkarbonat, Bac. prodigiosus auf Aepfelsäureagar vorgezüchtet worden. Die angewandten Kulturen waren 2 Tage alt. Von den drei ersteren waren die Aufschwemmungen gegen Lackmuspapier fast neutral, von Bac. prodigiosus stark sauer.

$3^1/_2$ Jahre später wurden von II—V quantitative Untersuchungen durchgeführt unter genau denselben Bedingungen, wie sie für I seinerzeit innegehalten worden waren.

Die Resultate sind der besseren Uebersicht wegen in der Tabelle II zusammengestellt. (Siehe S. 168 u. 169.)

Es wurden jedesmal 2 Versuche nebeneinander angesetzt, der eine in der gewöhnlichen Weise, bei dem anderen wurde die Aufschwemmung mit einer Kaliumnitrat- oder einer primären Phosphatlösung verdünnt, so daß die Gesamtflüssigkeitsmenge (einschließlich der 10 ccm Wasserstoffsuperoxyd) 0,5 Proz. Kaliumnitrat resp. 0,9 Proz. Kaliumphosphat enthielt. Damit wurde zweierlei erreicht. Erstens war es, wie oben ausgeführt, möglich, neben dem Einfluß des Alters auch den der Art und Weise des Eintrocknens und der Aufbewahrung festzustellen, und zweitens sollten die Bestimmungen mit den Zusätzen darüber Aufschluß bringen, ob sich der Einfluß der Salze auf die Katalasewirksamkeit bei den verschieden alten Kulturen in der gleichen Richtung bewegte, wie er bei den frischen Kulturen beobachtet worden war.

Bei Bac. pyocyaneus wirkte sowohl in der Frischkultur wie

in den mehrjährigen Trockenkulturen das Kaliumnitrat stets hemmend auf die Gasentwicklung. Die Hemmung zeigte sich gegenüber den Frischkulturen im letzteren Falle noch etwas verstärkt. Die Art des Eintrocknens war von wesentlicher Bedeutung. Der direkte Bakterienabstrich in trockene Glaskolben (II) enthielt nach der $3^1/_2$jähr. Aufbewahrungszeit überhaupt keine aktive Katalase mehr, ebenso war — und das bei allen 4 untersuchten Spezies — in der mit Chloroform und Aceton getöteten und angetrockneten Aufschwemmung (V) die Katalase völlig inaktiviert. In der über Schwefelsäure getrockneten und dann außerhalb des Exsikkators bei Zimmertemp. aufgestellten Aufschwemmung (III) und in der dauernd im Exsikkator aufbewahrten Aufschwemmung (IV) war die Katalase noch wirksam, wenn auch geschwächt.

Die Katalase von Bac. prodigiosus, die in frischen Aufschwemmungen recht aktiv ist, war in allen angetrockneten Kulturen innerhalb der angegebenen Aufbewahrungszeit vollkommen inaktiviert. Der Grund hierfür scheint allerdings nicht allein im Alter zu liegen, sondern mehr auf die sehr saure Reaktion des ursprünglichen Nährbodens zurückzuführen zu sein.

Ueber Ergebnisse neu angesetzter Versuche kann zurzeit nur berichtet werden, daß angetrocknete Bakterienabstriche, die von auf Bouillonagar mit und ohne Glukosezusatz gezogenen Kulturen stammten, nach einjähriger Aufbewahrung bei Zimmertemp. noch wirksame Katalase enthielten, dieselbe jedoch geschwächt war und zwar in den Kulturabstrichen von dem zuckerhaltigen Nährboden bedeutend stärker als von dem kohlehydratfreien, trotzdem die beiden in der Aufschwemmung eine gleiche, fast neutrale Reaktion aufwiesen.

Vibrio Dunbar enthält nur wenig Katalase, aber diese war, wie wir sahen, noch nach 10 Jahren in geringerem Maße wirksam. Nach $3^1/_2$ Jahren war sie verhältnismäßig wenig geschwächt. Kleine Unterschiede machten sich zwischen II und III geltend. In der Antrocknung nach III war das Enzym noch etwas wirksamer als in der nach II. Der Salpeter wirkte immer hemmend.

Bei Staphylococcus albus ist die Aktivität der Katalase in Frischkulturen eine sehr große. In den direkten Abstrichen (II) hatte die Katalase $3^1/_2$ Jahre lang fast ihre volle Wirksamkeit behalten. In der angetrockneten Aufschwemmung (III) dagegen war sie sehr deutlich geschwächt. Merkwürdig war die Wirkung des Phosphatzusatzes auf die Katalase des Staphylococcus. Das Phosphat wirkt sowohl als Salz, wie Michaelis und Pechstein[1]) mit neutralen Phosphatgemischen nachweisen konnten, als auch durch Erhöhung der Wasserstoffionenkonzentration der Lösung auf die Katalase ein. In der frischen Aufschwemmung wurde eine beträchtliche Verzögerung der Gasentbindung nach Phosphatzusatz beobachtet, ebenso hemmend wirkte das Phosphat bei der eingetrockneten Aufschwemmung (III). Bei dem eingetrockneten Bakterienabstrich (II) hingegen wurde die Sauerstoffentwicklung durch das Phosphat begünstigt. Da in der $^2/_1$ starken Aufschwemmung die Gasbildung eine sehr stürmische war und das Resultat deshalb als unsicher gelten konnte, wurde der quantitative Versuch mit stärker verdünnten Aufschwemmungen wiederholt, doch blieb das Ergebnis unverändert. Welche Ursache dieser auffallenden Erscheinung zugrunde liegt, bleibt vorläufig unbekannt.

---

1) Michaelis, L., und Pechstein, H., Untersuchungen über die Katalase der Leber. (Biochem. Zeitschr. Bd. 53. 1913. S. 320.)

belle II.

III		IV		V	
ohne Zusatz	mit Zusatz	ohne Zusatz	mit Zusatz	ohne Zusatz	mit Zusatz
$^2/_1$ stark —	$^2/_1$ stark + 0,5 % KNO_3	$^2/_1$ stark —	$^2/_1$ stark + 0,5 % KNO_3	$^2/_1$ stark —	$^2/_1$ starke + 0,5 % KNO_3
1,7 ccm O	0,2 ccm O	2,0 ccm O	0,2 ccm O	0 ccm O	0 ccm O
3,0 „ „	0,5 „ „	3,8 „ „	0,6 „ „		
5,5 „ „	1,0 „ „	5,8 „ „	1,0 „ „		
7,0 „ „	2 6 „ „	7,6 „ „	2,3 „ „		
8,2 „ „		9,6 „ „			
9,3 „ „		11,1 „ „			
9,9 „ „					
10,7 „ „	6,7 „ „	13,8 „ „	5,45 „ „	0 ccm O	0 ccm O
$^2/_1$ stark —	$^2/_1$ stark + 0,5 % KNO_3	$^2/_1$ stark —	$^2/_1$ stark + 0,5 % KNO_3	$^2/_1$ stark —	$^2/_1$ stark + 0,5 % KNO_3
0 ccm O	0 ccm O	0 ccm O	0 ccm O	0 ccm O	0 ccm O
0 ccm O	0 ccm O	0 ccm O	0 ccm O	0 ccm O	0 ccm O
$^2/_1$ stark —	$^2/_1$ stark + 0,5 % KNO_3	$^2/_1$ stark —	$^2/_1$ stark + 0,5 % KNO_3	$^2/_1$ stark —	$^2/_1$ stark + 0,5 % KNO_3
1,2 ccm O	0,9 ccm O			0 ccm O	0 ccm O
1,5 „ „	1,2 „ „				
1,9 „ „	1,5 „ „				
3,0 „ „	2,5 „ „			0 ccm O	0 ccm O
$^2/_1$ stark —	$^2/_1$ stark + 0,9 % KH_2Po_4	$^2/_1$ stark —	$^2/_1$ stark + 0,9 % KH_2Po_4	$^2/_1$ stark —	$^2/_1$ stark + 0,9 % KH_2PO_4
0,2 ccm O	0,1 ccm O			0 ccm O	0 ccm O
0,5 „ „	0.2 „ „				
1,3 „ „	0,8 „ „				
4,0 „ „	2,7 „ „				
6,9 „ „	4,4 „ „				
11,0 „ „	8,5 „ „				
15,6 „ „	11,6 „ „				
19,8 „ „	16,9 „ „			0 ccm O	0 ccm O

Alle Antrocknungen der 4 Spezies enthielten nur abgestorbene Zellen. Bei Bac. prodigiosus, Bac. pyocyaneus und Vibrio Dunbar war das proteolytische Enzym, wie sich durch Abimpfungen auf Nährgelatine leicht feststellen ließ, in denjenigen Fällen, in denen die Inaktivität der Katalase konstatiert werden konnte, noch erhalten und kräftig wirksam.

Die Peroxydasereaktion fiel mit allen Frischkulturen positiv aus. Mit Bac. pyocyaneus und Vibrio Dunbar etwas stärker wie mit Bac. prodigiosus und Staphylococcus, wie die Tabelle III (s. S. 170) zeigt.

Es ist bei den verschiedenen Verdünnungen unterschieden worden zwischen denen, bei welchen eben noch deutliche, wenn auch schwache

Ta

Mikroorganismen	Zeit	I		II	
		ohne Zusatz	mit Zusatz	ohne Zusatz	mit Zusatz
		$^1/_{20}$ stark —	$^1/_{20}$ stark + 0,5 % KNO_3	$^2/_1$ stark —	$^2/_1$ stark + 0,5 % KNO_3
Bac. pyocyaneus	10′	0,5 ccm O	0,2 ccm O	0 ccm O	0 ccm O
	30′	3,0 „ „	0,8 „ „	↓	↓
	60′	5,7 „ „	1,6 „ „		
	2h	7,5 „ „	3,0 „ „		
	3h	8,2 „ „	4,2 „ „		
	4h	9,0 „ „	5,4 „ „		
	8h	9,6 „ „	6,9 „ „		
	20h	9,7 „ „	7,1 „ „	0 ccm O	0 ccm O
		$^1/_5$ stark —	$^1/_5$ stark + 0,5 % KNO_3	$^2/_1$ stark —	$^2/_1$ stark + 0,5 % KNO_3
Bac. prodigiosus	5′	17 ccm O	3,5 ccm O	0 ccm O	0 ccm O
	8′	30 „ „	↓	↓	↓
	10′		11 „ „		
	20′		22,5 „ „		
	30′		27,9 „ „		
	60′		36′ : 30 ccm O		
	20h			0 ccm O	0 ccm O
		$^1/_1$ stark —	$^1/_1$ stark + 0,5 % KNO_3	$^2/_1$ stark —	$^2/_1$ stark + 0,5 % KNO_3
Vibrio Dunbar	30′	0,3 ccm O	0,2 ccm O	0,5 ccm O	0,5 ccm O
	60′	0,6 „ „	0,4 „ „	0,8 „ „	0,7 „ „
	90′	1,2 „ „	1,0 „ „	0,9 „ „	↓
	120′	1,3 „ „	1,1 „ „	1,1 „ „	
	150′	1,4 „ „	1,2 „ „	1,2 „ „	0,9 „ „
	20h	2,2 „ „	1,7 „ „	1,7 „ „	1,3 „ „
		$^2/_1$ stark —	$^2/_1$ stark + 0,9 % KH_2PO_4	$^2/_1$ stark —	$^2/_1$ stark + 0,9 % KH_2PO_4
Staphylococcus albus	3′	30 ccm O	10 ccm O	1′ 45″ : 30 ccm O	1′ 25″ : 30 ccm O
	5′		↓		
	10′		18 „ „		
	20′		↓		
	30′		23′ : 30 ccm O		
	60′				
	120′				
	24h				

Grünfärbungen auftraten, und denen, die nach einigen Minuten Stehens noch einen gerade sichtbaren grünlichen Schein erkennen ließen; dieser letztere Verdünnungsgrad ist mit „Reaktionsgrenze" bezeichnet. Die Zahlen lassen erkennen, daß die Reaktion mit den alten Antrocknungen ebenso oder fast ebenso scharf auftrat wie mit frischer Kultur. Nur die mit Chloroform abgetötete und dann getrocknete Aufschwemmung von Vibrio Dunbar gab keine positive Reaktion mehr. Diese Feststellung deckte sich mit einer früheren analogen Beobachtung bei denselben Mikroben.

Aus den dargelegten Befunden geht hervor, daß die Katalase in angetrockneten Bakterien — das Ergebnis von Bac. prodigiosus vorläufig ausgenommen — lange Zeit haltbar ist und daß ihre Akti-

Tabelle III.

Bakterien	I		II		III		IV		V	
	Reaktion noch deutlich	Reaktionsgrenze	Reaktion noch deutlich	Reaktionsgrenze	Reaktion noch deutlich	Reaktionsgrenze	Reaktion noch deutlich	Reaktionsgrenze	Reaktion noch deutlich	Reaktionsgrenze
Bac. pyocyaneus	1:13 200	1:26 400	1:13 200	1:26 400	1:13 200	1:26 400	1:13 200	1:26 400	1:6600	1:1320
Bac. prodigiosus	1:3300	1:13 200	1:3300	1:6600	1:3300	1:6600	1:3300	1:6600	1:3300	1:6600
Vibrio Dunbar	1:13 200	1:26 400	1:13 200	1:26 400	1:13 200	1:26 400	.	.	—	—
Staphyl. albus	1:3300	1:13 200	1:3300	1:6600	1:3300	1:6600	.	.	1:3300	1:6600

vität im allgemeinen mit dem Alter der Kulturen abnimmt, doch ist die Art des Antrocknens für manche Spezies von Wichtigkeit. Nur in einem einzigen Falle, und zwar bei Staphylococcus albus, konnte eine Wirksamkeitsbeschleunigung der Katalase in einer $3^1/_2$ Jahre lang aufbewahrten Antrocknung beobachtet werden. Die Wirksamkeit der Katalase erwies sich also in diesen Fällen als gänzlich unabhängig vom „Leben" der Zellen. Tötet man aber die Bakterien einer Aufschwemmung vor dem Eintrocknen durch Zusatz eines Chloroform-Acetongemisches ab, so geht auch die Katalase, resp. ihre Wirksamkeit, zugrunde. Die Wirksamkeit der Peroxydase wiederum ist vollkommen unabhängig von derjenigen der Katalase und, wie es scheint, noch weit länger in abgestorbenen Bakterienkulturen haltbar wie diese.

Der Salpeter hat bei 3 Spezies, sowohl bei jungen wie alten Kulturen, hemmend auf die Katalase gewirkt, das primäre Phosphat bei einer jungen und einer alten eingetrockneten in gleicher Weise wie das Nitrat, bei einer angetrockneten Kultur aber deutlich beschleunigend, trotzdem die Aufschwemmung infolge des Phosphatzusatzes stark sauer reagierte.

Das Nitrat war in einer Stärke von 0,5 Proz. angewandt worden. Wurde das Nitrat 60/mol stark genommen (es entspricht das noch rund 0,15 Proz.) und unter sonst gleichen Bedingungen die quantitativen Versuche mit frischer Aufschwemmung von Vibrio Dunbar wiederholt, dann war der Erfolg entgegengesetzt. Der Salpeter wirkte in dieser Konzentration begünstigend, die Stärke der Bakterienaufschwemmung war dabei von untergeordneter Bedeutung. Im ungünstigsten Falle waren bei $^1/_2$ starker Aufschwemmung ohne Salzzusatz innerhalb 22 Std. 3,6 ccm Sauerstoff gebildet, mit Nitrat 4,2 ccm. Bei $^1/_4$ starker Aufschwemmung waren ohne Zusatz nach 21 Std. 2,8 ccm, mit Salpeter 5,5 ccm, bei $^1/_1$ starker Aufschwemmung innerhalb 25 Min. 9,5 resp. 15 ccm Sauerstoff gebildet.

Nach Michaelis und Pechstein[1]) hemmen die Neutralsalze die Katalasewirkung und das hemmende Agens soll das Anion des betreffenden Neutralsalzes sein. Es ergab sich dabei die Reihenfolge $SO_4 < Cl < Acetat < NO_3$. Demnach verursacht das Nitrat die stärkste

1) Michaelis, L., u. Pechstein, H., Untersuchungen über die Katalase der Leber. (Biochem. Ztschr. Bd. 53. 1913. S. 320.)

Hemmung. Die Versuche von Michaelis sind mit Leberkatalase ausgeführt, und es ist möglich, daß die Bakterienkatalase sich anders verhält; es ist aber auch denkbar, sogar wahrscheinlicher, daß die widersprechenden Resultate auf andere Ursachen zurückzuführen sind, handelt es sich doch bei der Einwirkung auf eine Bakterienaufschwemmung nicht um eine ausschließliche Wirkung der Salze auf das Ferment. Die Wasserstoffionenkonzentration war bei den Versuchen immer angenähert dieselbe. Sie schaltet demnach als Ursache vollkommen aus.

Es seien noch einige weitere Befunde angegeben, in denen sich die Salzwirkung verschieden und nicht immer den Beobachtungen von Michaelis und Pechstein an der Leberkatalase entsprechend, äußerte. Bac. fusiformis, 22 Std. auf neutralem Möhrenagar gezüchtet, in $^1/_1$ starker Aufschwemmung, vermochte innerhalb von 10 Min. aus der Kontrollösung ohne Zusatz 4,3 ccm, aus der mit Kaliumsulfat 3,6 ccm, mit Kaliumchlorat 2,6 ccm und mit Kaliumnitrat 2,5 ccm Sauerstoff freizumachen. Dieser Vorgang wäre also der „normale". Die Ablesungen nach 26 Std. waren nicht analog denen nach 10 Min.; die Salze hatten wohl Hemmung hervorgerufen, aber die Reihenfolge war jetzt eine andere; am stärksten gehemmt hatte Kaliumsulfat mit 18,4 ccm Sauerstoff, dann folgte Kaliumchlorat mit 19,1 ccm und erst darauf Kaliumnitrat mit 19,6 ccm gebildetem Sauerstoff gegenüber 21 ccm Gas in der Kontrolle. Die Salze waren in 60 mol. Stärke vorhanden. Von derselben Aufschwemmung wurde ein aliquoter Teil im Becherglas im Exsikkator getrocknet. Nach 18 Tagen wurde die Antrocknung mit so viel sterilem Wasser angeschüttelt, daß wieder eine $^1/_1$ starke Aufschwemmung resultierte. (In einem Kubikzentimeter derselben waren 8,23 mg lufttrockene Bakterienmasse enthalten.) Mit der so erhaltenen Aufschwemmung wurden dann nochmals die gleichen Bestimmungen vorgenommen. Die Wasserstoffsuperoxydkonzentration war, wie zuerst, 1 ccm Perhydrol auf 100 ccm Wasser. Innerhalb 10 Min. waren bei der Kontrolle nur 0,9 ccm Sauerstoff entwickelt, in der nitrathaltigen Aufschwemmung aber 1,1 ccm — also mehr! —, in der mit Kaliumsulfat und Kaliumchlorat je 0,5 ccm Sauerstoff. Nach 5 Std. waren die Gasmengen die folgenden: Kontrolle 11,1 ccm, Nitrataufschwemmung 11,7 ccm, Kaliumsulfataufschwemmung 9,6 ccm und Kaliumchlorataufschwemmung 9,1 ccm Sauerstoff. Am Schluß des Versuches, nach 22 Std., waren die Zahlen: 11,7 ccm, 11,7 ccm, 9,9 ccm und 9,9 ccm, also zwischen Kontrolle und Nitrataufschwemmung kein Unterschied mehr.

Bei Soja hispida-Knöllchenbakterien einer 3 Tage alten Möhrenagarkultur in $^1/_1$ starker Aufschwemmung waren die Ergebnisse nach 30 Min. langer Einwirkung des Hydroperoxyds: Kontrolle 4,7 ccm, Aufschwemmung mit Nitrat 3,7 ccm, mit Kaliumsulfat 3,9 ccm, mit Kaliumchlorat 3,7 ccm; nach 5 Std.: Kontrolle 13,6 ccm, mit Nitrat 9,8 ccm, mit Sulfat 10,4 ccm und mit Chlorat 9,6 ccm; nach 29 Std.: 16,5, 11,3, 12,9 und 11,3 ccm Sauerstoff. Dieselbe Aufschwemmung erst im Exsikkator eingetrocknet, dann nach 15 Tagen wieder aufgeschwemmt — 1 ccm derselben entsprach 13,2 mg lufttrockner Bakterienmasse — ergab nach 30 Min. langer Versuchsdauer: Kontrolle 2,5 ccm, mit Nitrat 1,0 ccm, mit Sulfat 1,3 ccm und mit chlorsaurem Salz 0,5 ccm Sauerstoff; (nach 5 Std. 7,2 ccm, 30 Min. langer Versuchsdauer: Kontrolle 2,5 ccm, mit Nitrat 1,0 ccm, mit Sulfat 1,3 ccm und mit chlorsaurem Salz 0,5 ccm Sauerstoff); nach 5 Std.: 7,2 ccm, 4,3 ccm, 5,0 ccm und 2,7 ccm, nach 22 Std.: 8,1, 5,2, 6,1 und 3,6 ccm Sauerstoff. Bei den Sojaknöllchenkulturen war die hemmende Wirkung der Salze demnach wieder einheitlich. Nicht einheitlich aber war die Reihenfolge der Salze nach ihrer Wirkung. Bei der Frischkultur $SO_4 < NO_3$, ClO_3, bei der angetrockneten $SO_4 < NO_3 < ClO_3$; einmal also Uebereinstimmung der Salzwirkung bei Nitrat und Chlorat, das andere Mal stärkere Hemmung durch ClO_3 wie durch NO_3.

Was sich aber sowohl bei Bac. fusiformis wie bei den Knöllchenbakterien von Soja nicht zeigt, ist die Schwächung der Katalase durch das Eintrocknen der Kulturen im Exsikkator.

Bei frischer Aufschwemmung der Knöllchenbakterien von Lupinus mutabilis war das Verhältnis in der hemmenden Wirkung der Salze nach 30 Min. „normal"; nach 5 Std. hatte sich dieses Verhältnis insoweit geändert, als die Gasmengen der Kontrolle und der mit Kaliumsulfat übereinstimmten; nach 20 Std. waren sie beide gleichmäßig erhöht. Auch der Unterschied zwischen der Nitrat- und Chloratwirkung war ausgeglichen; also Kontrolle, Kaliumsulfat < Nitrat, Chlorat. In einer $^1/_1$ starken Bac. prodigiosus-Aufschwemmung wirkte die Nitratgabe zu Anfang stark hemmend — nach 10 Minuten 5,1 ccm Sauerstoff gegenüber 7,8 ccm

in der Kontrolle — nach 20 Min. war die Differenz aber nur noch sehr gering, 21,2 gegen 21,4 ccm, betrug also nur 0,2 ccm.

Bei Staphylococcus pyogenes albus wiederum war die anfängliche Hemmung des Nitrats ebenso groß wie bei Lupinus-Bakterien. Nach 5 Std. aber und auch noch nach 22 Std. war die Gasmenge der Kontrolle geringer wie die mit dem Nitrat (20,7 und 21 ccm).

Der Ausfall war bei Bac. fusiformis auch unabhängig vom Nährboden, denn es war einerlei, ob die Züchtung auf Möhrenagar oder Bouillonagar vorgenommen war. Entscheidend aber war bei diesem Sporenbildner das Alter der Kultur. Wurde an Stelle einer 20—24 Std. alten Kultur eine 5 Tage alte angewandt, die einen überwiegenden Prozentsatz an Sporen enthielt, so wirkte das Nitrat begüustigend auf die Sauerstoffentwicklung, derart, daß die höhere Salpeterkonzentration 30/mol die Gasentbindung noch stärker beschleunigte, wie die geringere 60/mol. Die langsamere Wirkung der Katalase bei der Sporenkultur gegenüber der der vegetativen ist hervorzuheben. Eine derartige Verzögerung der Hydroperoxydzersetzung in Sporen enthaltenden Kulturen wurde auch durch D. und M. Rywosch[1]) bei Bac. anthracis beobachtet. Während bei der 22-stünd. Kultur mit vorwiegend vegetativen Zellen nach 3 Std. bereits 19 ccm Sauerstoff entwickelt waren, zeigten sich bei der 5 Tage alten Sporenkultur in der gleichen Zeit erst 8,4 ccm Gas. Die katalytische Kraft war bei der Sporenkultur an sich nicht geringer, denn am Versuchsende, das bei beiden zeitlich natürlich differierte, war hier nicht weniger Sauerstoff gebildet, als durch die Katalase der vegetativen Bakterienaufschwemmung.

Aus alledem läßt sich also schließen, daß bei der Bakterienkatalase — sofern, wie es bisher geschehen ist, die betreffenden Bakterienaufschwemmungen oder ihre Filtrate und nicht das vielleicht aus ihnen isolierbare reine oder doch gereinigte Enzym zu den Untersuchungen herangezogen werden — keine so strenge Gesetzmäßigkeit bezüglich ihrer Beeinflussung durch Salze besteht, wie sie für gereinigte Katalase anderer Herkunft bereits erwiesen ist. Der Ausfall und die Stärke der Benzidinreaktion scheinen von der Gegenwart derartiger Salze vollständig unabhängig zu sein.

Einfluß von Gasen.

Eine weitere Frage war nun: Wird die Aktivität der Katalase dadurch beeinträchtigt, daß man eine Zeitlang durch die Bakterienaufschwemmung einen Gasstrom, z. B. Sauerstoff, Wasserstoff oder Stickstoff, hindurchleitet? Der Sauerstoff wurde aus folgender Ueberlegung heraus gewählt. Es könnte ein, daß ein Teil des aus dem Hydroperoxyd freiwerdenden Sauerstoffs zu Oxydationen innerhalb der Bakterienaufschwemmung verwandt würde, dieser Sauerstoff würde gebunden; es wäre aber auch denkbar, daß der aus dem Wasserstoffsuperoxyd freiwerdende Sauerstoff teilweise als Wasserstoffakzeptor bei einer etwa stattfindenden Dehydrierung wirkte, es entstände unter gleichzeitiger Vereinigung von Wasserstoff und Sauerstoff Wasser. In beiden Fällen würde sich das Volumen der freien Sauerstoffmenge aus dem Wasserstoffsuperoxyd dadurch verringern. Andererseits würden diese Reaktionen vielleicht bereits durch den vor dem Hydroperoxydzusatz durchgeleiteten Sauerstoffstrom ausgelöst, und das dann aus dem Wasserstoffsuperoxyd freigewordene Sauerstoffvolumen würde sich vergrößern.

Bei der Verwendung des gasförmigen Wasserstoffs wären Reduktionen möglich, die entweder direkt auf die Katalase von Einfluß sein oder aber sich nur durch eine Verringerung des Sauerstoffvolumens kenntlich machen könnten ohne Schädigung der Katalase in der Weise

1) Rywosch, D., u. M., Ueber die Katalyse des Wasserstoffsuperoxyds durch Bakterien. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Bd. 44. 1907. S. 295.)

etwa, daß die durch Reduktion den Bakterien entzogene Sauerstoffmenge aus dem Sauerstoff des Wasserstoffsuperoxyds wieder ergänzt würde.

Um jedoch sicher zu sein, daß nicht etwa schon allein das Hindurchleiten eines Gases, unabhängig von seinen sonstigen Eigenschaften, die vielleicht beobachtbaren Veränderungen in der Sauerstoffentwicklung aus dem Hydroperoxyd bedingen, wurde das sich durch seine große Indifferenz auszeichnende Stickstoffgas herangezogen.

Bei den Versuchen wurden durch Aufschwemmungen bestimmter Stärke, die sich in weiten Reagenzgläsern in Mengen von etwa 12 ccm befanden, entsprechend einer Flüssigkeitssäule von 5 cm Höhe, die Gase einmal 1 und einmal 2 Std. hindurchgeleitet, dann wurden aliquote Teile zu den quantitativen Bestimmungen benutzt.

Dabei konnte für Bac. prodigiosus festgestellt werden, daß weder nach 1- noch nach 2stünd. kontinuierlichem Durchleiten von Sauerstoff, Wasserstoff oder Stickstoff ein Einfluß in der eben angedeuteten Richtung gegenüber der Kontrolle eingetreten war. Eine unbedeutende mehrmals zu beobachtende Erhöhung der Gasmenge bei der mit Sauerstoff behandelten Aufschwemmung läßt sich vielleicht dadurch erklären, daß die Aufschwemmungsflüssigkeit durch das Hindurchleiten von Sauerstoff bereits gesättigt und diese absorbierte Gasmenge von der bei der Zersetzung des Hydroperoxyds entstandenen Sauerstoffgasmenge nicht in Abzug gebracht war. Dieselben Resultate wurden erzielt bei analog mit Staphylococcus pyogenes aureus ausgeführten Versuchen.

D. und M. Rywosch[1]) haben sogar bei den Sarcinen beobachtet, daß bei ihnen, wie bei den Blutkörperchen, „oft mehr Sauerstoff entweicht, als der Berechnung nach aus der zugesetzten Menge des Wasserstoffsuperoxyds sich hat bilden können, so daß von einer Verwendung des Sauerstoffs von Wasserstoffsuperoxyd zu Oxydationszwecken unter diesen Umständen kaum die Rede sein kann".

Die Aufschwemmungen vor und nach der Behandlung mit den verschiedenen Gasen ließen einen Unterschied in der Reaktionsstärke und -geschwindigkeit bei der Prüfung mit Benzidin-Eisessig + Wasserstoffsuperoxyd in bezug auf die Peroxydase nicht erkennen.

Die Gasversuche haben gezeigt, daß, wenn tatsächlich Oxydationen oder Reduktionen eingetreten sein sollten, dieselben nur so schwach waren, daß sie durch die freiwerdende Sauerstoffmenge aus dem Hydroperoxyd nicht gemessen werden konnten.

Temperatureinflüsse.

Die Katalase ist gegen höhere Temperaturen sehr empfindlich. Gottstein[2]) hat bereits 1893 darauf hingewiesen, daß erhöhte Temperatur zugleich mit dem Leben der Mikroorganismen die wasserstoffsuperoxydspaltende Kraft derselben aufhebt. Jorns[3]) hat ferner durch seine Versuche gezeigt, daß keimfreies Filtrat einer Prodigiosus-Bouillonkultur durch längeres Erhitzen bei höherer Temperatur, z. B. „schon durch Verweilen bei 55°, die wasserstoffsuperoxydzersetzende Substanz in ihrer Wirksamkeit geschwächt wird, diese Schwächung mit der Länge der Temperatureinwirkung und mit der Temperaturhöhe zunimmt und bei 70° C in 30 Min. vollständig zerstört wird.

1) Rywosch, D. u. M., Ueber die Katalyse des Wasserstoffsuperoxyds durch Bakterien. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Bd. 44. 1907. S. 295.)

2) Gottstein, A., Ueber die Zerlegung des Wasserstoffsuperoxyds durch die Zellen, mit Bemerkungen über eine makroskopische Reaktion für Bakterien. (Arch. f. path. Anat. u. Physiol. u. f. klin. Med. [Virchows Archiv] Bd. 133. 1893. S. 295.)

3) Jorns, A., Ueber Bakterienkatalase. (Arch. f. Hyg. Bd. 67. 1908. S. 134.)

Letzteres ist also die Inaktivierungstemperatur für die Prodigiosus-Katalase." Diese Angaben wurden von mir mit einem Prodigiosus-Stamm unserer Sammlung nachgeprüft, aber es wurde nicht das Filtrat verwandt, sondern die vor Fremdinfektion geschützte Aufschwemmung der Prodigiosus-Bakterien. Die nicht erhitzte Kontrollaufschwemmung hatte innerhalb 3 Std. 21,6 ccm Sauerstoff, die zuvor 1 Std. auf 50° erhitzt gewesene Aufschwemmung 20,2 ccm Sauerstoff, die gleichlang auf 60° erhitzt gewesene 18,2 ccm und die $^1/_2$ Std. auf 70° erhitzte noch 3,8 ccm Sauerstoff in der gleichen Zeit aus Hydroperoxyd freigemacht. Nach 15 Min. langem Erhitzen bei 80° war jede Gasentwicklung aus dem Hydroperoxyd unterblieben. Wenn hier die Inaktivierungstemperatur etwas höher liegt, so ist das wohl auf die andere Versuchsanordnung zurückzuführen; das Endoenzym wird etwas resistenter sein, als das im Filtrat enthaltene. Bis zu 60° ist die Schädigung verhältnismäßig gering, nimmt von da an aber sehr stark zu.

Bei den Knöllchenbakterien von Soja hispida war nach 1stünd. Erhitzen auf 60° die Katalase stärker geschwächt, die aus dem Wasserstoffsuperoxyd freigemachte Sauerstoffmenge war nicht einmal halb so groß wie diejenige, die aus der 1 Std. auf 50° erhitzt gewesenen Aufschwemmung in der gleichen Zeit gebildet war, sie war nach 15 Min. langem Erhitzen auf 70° nur noch ganz gering und nach 15 Min. langem Erhitzen bei 80°, ebenso wie die bei Prodigiosus, völlig inaktiviert. Die Katalase von Bac. pyocyaneus war nach 1stünd. Erhitzen der Aufschwemmung auf 60° noch fast ebenso wirksam wie in der nicht erhitzten Aufschwemmung, sie war nach 30 Min. langer Erhitzungsdauer auf 70° aber bereits sehr stark geschwächt und bei 80° gleichfalls inaktiviert. Bei Staphylococcus pyogenes aureus war das Resultat folgendes: Die Kontrolle mit $^1/_{10}$ starker Aufschwemmung hatte innerhalb 15 Min. 55 Sek. 30 ccm Sauerstoff entwickelt; nach 1stünd. Erhitzen auf 50° waren nach 16 Min. 8 Sek. die 30 ccm Sauerstoff gebildet, auf 60° aber erst nach 24 Min. 25 Sek., und nach halbstündiger Erhitzung auf 70° wurden innerhalb 1 Std. 9,3 ccm, innerhalb 4 Std. 14,5 ccm Sauerstoff gemessen. Die Katalase war auch hier nach $^1/_4$stünd. Erhitzen auf 80° unwirksam. Staphylococcus pyogenes albus stimmte betreffs der Inaktivierungstemperatur seiner Katalase mit Staphylococcus pyogenes aureus überein, die Katalase zeigte sich hier aber nach $^1/_2$stünd. Erhitzen auf 70° weniger geschwächt wie die des Staphylococcus pyogenes aureus. Bei drei zu verschiedenen Zeiten angesetzten Versuchsreihen mit Staphylococcus albus waren die Verhältniszahlen der einzelnen Versuchsreihen je nach Dauer und Höhe der Erhitzung in bezug auf die Kontrollen gut übereinstimmend; anders lagen die Verhältnisse, wenn man die Kontrollen unter sich verglich. In einem Versuch waren nach 5 Min. 6,0 ccm Sauerstoff, im 2. nach der gleichen Zeit bereits 17,0 ccm, und im letzten nach 5 Min. 12,7 ccm Sauerstoff entwickelt. Es sind das ziemlich große Differenzen, deren Ursachen jedoch erklärbar scheinen. Die Kulturen waren alle auf einem Nährboden gleicher Zusammensetzung und gleicher Reaktion gewachsen und ihre Aufschwemmungen in gleicher Stärke benutzt worden. Die Kultur des 1. Versuches war aber 20 Std. alt gewesen, die des 2. 16 Std. und die des 3. 18 Std. alt; es scheint also das Alter der Kultur — selbst innerhalb dieser engen Grenzen —

einen gewissen Einfluß auf die anfängliche Sauerstoffentwicklung zu haben. Je jünger die Kultur, um so stärker zu Anfang die hydroperoxydzersetzende Kraft. Nach 4stünd. Einwirkung waren die gebildeten Sauerstoffmengen der einzelnen Kontrollen unter sich aber fast gleich, die anfänglich nicht erheblichen Unterschiede also fast ausgeglichen.

Am empfindlichsten gegen höhere Temperaturen erwies sich die Katalase von Sarcina flava. In $^1/_5$ starker Aufschwemmung waren durch die nicht erhitzte Kontrolle innerhalb 10 Min. 30 ccm Sauerstoff frei geworden, nach vorangegangener 1stünd. Erhitzung auf 50° war dieselbe Menge Gas nach 12 Min. 55 Sek. entwickelt, nach 1stünd. Erhitzung auf 60° in 20 Std. erst 20 ccm Sauerstoff gebildet, und $^1/_2$stünd. Erhitzung auf 70° hätte genügt, die Katalase vollständig zu inaktivieren.

Bei den nichtsporenbildenden Bakterien ist, wie die obigen Versuchsergebnisse klar beweisen, eine viertelstündige Erhitzung auf 80° immer ausreichend, um den Verlust der Katalasewirksamkeit herbeizuführen, handelt es sich dagegen um Katalase in Bakteriensporen, so wird eine Temperatur von 100° vertragen, und die Inaktivierung hängt ab von der vitalen Widerstandsfähigkeit der Sporen der einzelnen Spezies.

Eine 10 Tage alte Kultur von Bac. fusiformis mit überwiegend Sporen wurde mit sterilem Wasser abgeschwemmt und die Abschwemmung in einem dünnwandigen Reagenzglas 90 Sek. lang in ein wallend-kochendes Wasserbad eingehängt (nach 15 Sek. hatte der Inhalt der Reagenzgläser die Temperatur des Wasserbades angenommen). Dadurch wurden die vorhandenen Stäbchen abgetötet und die Katalase dieser vegetativen Formen zerstört. Es blieb nur die in den Sporen eingeschlossene Katalase wirksam. Bei der Bestimmung mit dem Wasserstoffsuperoxyd waren nach 60 Min. 4 ccm Sauerstoff, nach 120 Min. 6,5 ccm und nach 20 Std. 17,4 ccm Sauerstoff gebildet. Von einer jungen, 22 Std. alten Kultur, in der nur ein geringer Prozentsatz an Sporen vorhanden war, wurde innerhalb von 20 Std. etwa die gleiche Kubikzentimeterzahl an Sauerstoff gemessen; wurde aber zuvor bei 100° 90 Sek. erhitzt, so waren nach 60 Min. nur 0,9 ccm und nach 20 Std. nur 6,0 ccm Sauerstoff entwickelt; bei einer noch jüngeren, erhitzten Kultur war auch der aus dem Wasserstoffsuperoxyd freigemachte Sauerstoff nach 20 Std. quantitativ noch geringer.

In einem anderen Versuch gab eine $^2/_1$ starke Aufschwemmung einer 7 Tage alten Möhrenagarkultur von Bac. fusiformis, die weder erhitzt noch zentrifugiert war, innerhalb 4 Std. 23 ccm, nach 20 Std. 26,1 ccm Sauerstoff, eine erhitzte, ebenfalls nicht zentrifugierte, innerhalb derselben Zeit 20,4 resp. 23,4 ccm Sauerstoff. Durch das Erhitzen ist also nur die Katalase der wenigen Stäbchen zerstört, dadurch ist der Unterschied nicht sehr groß. Wurde die Aufschwemmung nicht erhitzt, aber mehrmals zentrifugiert, so waren die Gasmengen nach 20 Std. im aufgeschwemmten Bodensatz 22,3 ccm Sauersofft und in den vereinigten Waschwässern, die sich bei der mikroskopischen Kontrolle nicht als ganz bakterienfrei erwiesen, waren nach 20 Std. noch 4,1 ccm Sauerstoff entwickelt. Durch das Zentrifugieren ist somit keine Schädigung der Katalase eingetreten. War die Aufschwemmung erhitzt und mehrmals zentrifugiert worden, so entwickelte der abgeschwemmte Bodensatz innerhalb 20 Std. 18,5 ccm Sauerstoff und die leider auch diesmal wieder bakterienhaltigen vereinigten Waschwässer 4,5 ccm Sauerstoff. Immerhin ersieht man hier, daß die Gesamtmenge an Sauerstoff (18,5 + 4,5 = 23,0 ccm) dem Befund bei der erhitzten, nicht zentrifugierten Aufschwemmung entspricht.

In einer ganz jungen Kulturaufschwemmung mit nur sehr wenig Sporen waren nach dem Erhitzen und Zentrifugieren nach 20 Std. 5,3 ccm Sauerstoff gebildet, entgegen 30 ccm Sauerstoff innerhalb von 10 Min. bei der nicht erhitzten Kontrolle. Die Waschwässer, die in diesem Falle völlig bakterienfrei waren, hatten innerhalb von 20 Std. überhaupt keine Sauerstoffentbindung aus dem Wasserstoffsuperoxyd bewirkt. (Bei Versuchen mit nichterhitzten Aufschwemmungen von Staphylococcus pyogenes aureus war nach $^1/_4$-stünd. Zentrifugieren und vorsichtigem Abhebern eines aliquoten Teiles der überstehenden klaren und keimfreien Flüssigkeit alle Katalase im Bodensatz und keine Spur in der klaren Flüssigkeit; ebenso verhielt es sich mit Sarcina flava; wenn hier Ektokatalase neben Endo-

katalase vorhanden wäre, müßte sich dieselbe durch das Ausschleudern mit abgesetzt haben.)

Hing man eine 10 Tage alte Kultur von Bac. fusiformis 10 Min. in ein siedendes Wasserbad, dann war die Katalase völlig zerstört und jede Gasentbindung aus dem Hydroperoxyd unterblieb. Die supramaximale Tötungszeit der Bac. fusiformis-Sporen war überschritten und damit auch die des Enzyms. Nahm man an Stelle von Bac. fusiformis Semiclostridium commune, dessen Sporen gegen Temperaturen von 100° wesentlich widerstandsfähiger sind, und erhitzte 5, 10 und 15 Min. im stark wallenden Wasserbad, so war nach dieser Zeit die Katalase stets noch wirksam.

Bedeutend resistenter gegen Hitze als die Katalase erwies sich die Peroxydase der Bakterien. Sie war auch zum Unterschied von jener in den nicht sporenbildenden Bakterien thermostabil. Ein weiterer Unterschied gegenüber der Katalase bestand darin, daß sich durch das Eintrocknen der Bakterienkultur die Widerstandskraft der Peroxydase gegen die Kochtemperatur erhöhte, wie das für Bac. prodigiosus in geringem Maße, für Staphylococcus albus und Sarcina in stärkerem Maße der Fall war und wie Tabelle IV erkennen läßt. Wird die Widerstandsfähigkeit der Peroxydase der gramnegativen Bakterien, wie Bac. pyocyaneus und Bac. prodigiosus, mit derjenigen der grampositiven, wie Staphylococcus albus und Sarcina flava, verglichen, so scheint es, als ob gewisse Beziehungen zwischen dieser und der Gramfestigkeit bestünden; auch bei den gramnegativen Knöllchenbakterien von Pisum arvense und dem ebenfalls gramnegativen Azotobacter chroococcum fällt die geringe Widerstandsfähigkeit der Peroxydase auf. Die hohe Peroxydaseresistenz des gramnegativen Bac. tumefaciens zeigt aber, daß eine Abhängigkeit derselben von der Gramfestigkeit nicht besteht (Tabelle IV).

Tabelle IV.

Erhitzungsdauer bei 100°	Peroxydasereaktion										
	Bac. pyocyaneus	Bac. prod.		Staph. alb.		Sarc. flava		Bac. tumef.	Bac. radicic. von Pisum arvense	Bac. mesenterique Zettnow	Azotobacter chroococc.
		Frischkultur	Angetrocknete Kultur	Frischkultur	Angetrocknete Kultur	Frischkultur	Angetrocknete Kultur				
2′	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
4′	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
6′	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
7′	+	±	+	+	+	+	+	+	+	+	+
8′	+	−	±	+	+	+	+	+	+	+	+
10′	+	−	−	+	+	+	+	+	+	+	+
12′	−	−	−	+	+	+	+	+	−	+	±
15′	−	−	−	−	+	+	+	+	−	+	−
20′	.	.	.	.	+	+	+	+	−	+	.
25′	.	.	.	.	+	+	+	+	−	+	.
30′	.	.	.	.	−	+	+	+	.	+	.
40′	.	.	.	.	.	+	+	+	.	+	.
50′	.	.	.	.	.	∓	+	+	.	+	.
60′	.	.	.	.	.	−	+	+	.	+	.
75′	.	.	.	.	.	−	+	±	.	+	.
90′	.	.	.	.	.	−	+	−	.	+	.
120′	.	.	.	.	.	−	∓	−	.	+	.
150′	.	.	.	.	.	−	∓	−	.	+	.

Einfluß der Wasserstoffionenkonzentration.

Es wurde dann die Frage geprüft, bei welchen Wasserstoffionenkonzentrationen ungefähr die Bakterienkatalase ihre optimale Wirksamkeit entfaltet und wie groß die Variationsbreite der Wasserstoffionenkonzentration ist, innerhalb deren die Katalase aktiv bleibt.

Michaelis hat bereits durch exakte Versuche mit Leberkatalase bewiesen, daß das Optimum nahe dem Neutralpunkt liegt. Um die reine Wirkung der Wasserstoffionen zu erkennen, war es nötig, die Wirkung der als Regulatoren für die Wasserstoffionenkonzentration verwandten Salze möglichst auszuschalten; das gelang durch entsprechende Verdünnung. Ich arbeitete einerseits mit einem Gemisch von Azetat und Essigsäure, andererseits mit einem solchen von primärem Kalium- und sekundärem Natrium-Phosphat nach Sörensen. Ehe das Wasserstoffsuperoxyd zugesetzt wurde, ließ ich die gepufferten Aufschwemmungen 1 Std. bei Zimmertemp. stehen. Die Resultate, die mit Prodigiosus-Katalase und n/500 Azetatgemisch als Puffer gefunden wurden, sind unter anderem zugleich graphisch eingetragen mit denen, die von Staphylococcus albus und Staphylococcus aureus bei verschieden starker Konzentration der Regulatoren erzielt wurden; in dem Koordinatensystem sind in gleicher Weise wie bei Michaelis auf der Abszisse die Logarithmen der Wasserstoffionenkonzentration und auf der Ordinate die relativen Werte der wirksamen Fermentmengen eingetragen, wobei der optimale Wert als Einheit der Ordinate gesetzt ist (Fig. 2).

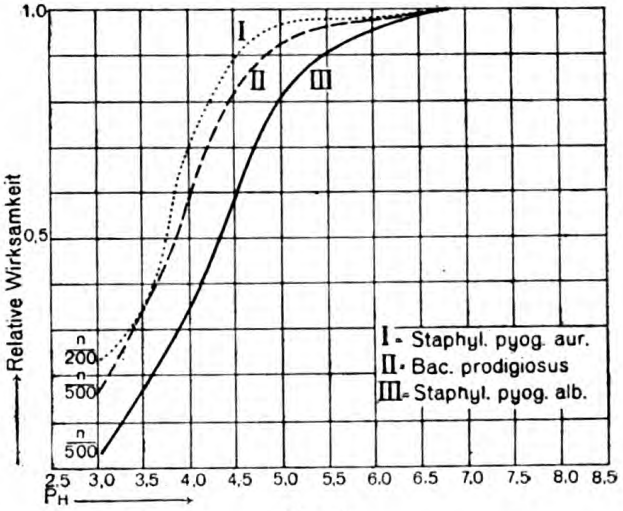


Fig. 2.

Das Optimum war in allen 3 Fällen zwischen p_H 6,5 und 7 erreicht und hielt sich auf dieser Höhe über p_H 7 hinaus. Erst zwischen p_H 7,5 und 8 war ein langsames Abfallen der Kurve bei den drei Bakterienaufschwemmungen festzustellen. Sarcina flava verhielt sich ganz ähnlich. Als Puffer diente für die alkalische Reaktion ein n/200 Phosphatgemisch. Nach Michaelis ist bei stark saurer Reaktion bis herab zu etwa 10^{-3} — geprüft mit Leberkatalase — das gesamte Ferment gänzlich unwirksam, da es bis dahin als Kation vorhanden sein soll. Bei 10^{-3} wäre demnach der Kardinalpunkt nach der sauren Seite erreicht. Bei der Wasserstoffionenkonzentration $= 10^{-3,1}$ war bei unseren Prüfungen noch Bakterienkatalase wirksam, ebenso nach der alkalischen Seite noch stärker bei $10^{-9,1}$. Die beiden Kardinalpunkte liegen für Bakterienkatalase demnach sehr weit vom Optimalpunkt entfernt.

Einfluß anaërober Züchtung.

In bezug auf den Katalasegehalt von aërob und anaërob lebenden Organismen sagt Wieland[1]): „Es kann kein Zufall sein, daß alle sauerstoffbedürftigen Lebewesen Katalasen enthalten. Von größter Bedeutung scheint mir auch die durch mehrere Arbeiten gesicherte Tatsache zu sein, daß anaërobe Bakterien, wie Tetanus und Botulinus, außerordentlich arm an Katalasen sind, während aërobe, wie Pneumococcus und Sarcina, und fakultativ aërobische (Hefe) dieselbe in reichlicher Menge enthalten."

Rywocz[2]) hat in neuerer Zeit Versuche gemacht mit anaërob und aërob gewachsenen Coli-Stämmen, die darauf hindeuten, daß die anaërob gewachsenen Kulturen im Gegensatz zu den aërob gezüchteten nur geringe Mengen oder gar keine Katalase enthalten.

Um zu prüfen, inwieweit Unterschiede im Katalasegehalt bei anaërob und aërob gezüchteten Bakterien derselben Spezies auftreten, wurde von mir Bac. asterosporus benutzt, der sowohl im völlig sauerstofffreien Medium wie in Luft zum Wachsen gebracht war, ferner Bac. lactis aërogenes, der einmal in Luft, einmal im Stickstoffstrom und einmal im sauerstofffreien Medium gezüchtet worden war.

Da die anaëroben Kulturen hinter den aërob gezüchteten an Ueppigkeit im Wachstum zurückbleiben, mußten zur Erlangung brauchbarer Resultate die Abschwemmungen der aëroben Kulturen entsprechend verdünnt werden.

Von den auf gleiche Dichtigkeit eingestellten Bakterienaufschwemmungen wurden je gleiche Mengen zur quantitativen Bestimmung verwandt.

Es zeigte sich in allen Fällen, daß die anaëroben Kulturen in ihrer wasserstoffsuperoxydzersetzenden Kraft wesentlich schwächer waren, als die aëroben Kulturen desselben Stammes.

Auch mit zwei aus einem Bienendarm isolierten Hefearten wurde das gleiche Resultat erhalten.

Es ist damit eine weitere Bestätigung erbracht, daß die aëroben Bakterien katalasereicher sind als die anaërob gewachsenen, und es muß daraus im Sinne Wielands geschlossen werden, daß die Katalase für die Anaëroben nicht von so großer physiologischer Bedeutung ist, wie für die in sauerstoffhaltiger Atmosphäre lebenden Organismen.

Einfluß von Säure, Lauge, Jod, Schwefelkohlenstoff und anderen physiologisch wirksamen Stoffen.

Zur Prüfung der Widerstandsfähigkeit der Bakterienkatalase gegen Säure resp. Alkali wurde folgende Versuchsanordnung gewählt.

Je 1 ccm einer $^1/_1$ starken Aufschwemmung der Bakterienreinkultur wurde in sterile Reagensgläser eingefüllt, dann je 5 ccm steriles Wasser zugefügt und darauf je 1 ccm Säure oder Lauge bestimmter Stärke. Nach genau 1-stünd. Stehen bei Zimmertemp. wurde mit je 1 ccm der entsprechend starken Lauge oder Säure neutralisiert, noch je 2 ccm steriles Wasser zugefügt, sodaß das Gesamtvolumen je 10 ccm betrug. Von den so vorbehandelten Aufschwemmungen wurde dann je 1 ccm $= ^1/_{10}$ stark oder 2 ccm $= ^1/_5$ stark usw. zur Katalasebestimmung benutzt. Daß vor der Versuchsanstellung auf genaue Neutralität der Bakterienabschwemmung geachtet wurde, ist selbstverständlich.

---

1) Wieland, H. Ueber den Mechanismus der Oxydationsvorgänge (IV). (Ber. d. Dtsch. Chem. Gesellsch. Bd. 54. II. 1921. S. 2353.)

2) Rywocz, D. Katalyse des Wasserstoffsuperoxyds durch Bakterien. (Przeglad epidemjol. Vol. 1. 1921. p. 525; ref. Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. 57. 1922. S. 361.)

Es wurden angesetzt: Aufschwemmungen mit n/100, n/50, n/25, n/10 und teilweise n/5 und n/1 Salzsäure und solche mit n/100, n/50, n/25, n/10, n/ und n/1 und teilweise 2n- und 4n-Natronlauge.

Zugleich wurden Abimpfungen von jeder neutralisierten Aufschwemmung auf Bouillonagar gemacht, um festzustellen, inwieweit die Entwicklung der Bakterien durch die Einwirkung von Säure resp. Alkali beeinträchtigt war. Ebenso wurde jeweils die Prüfung auf Peroxydase durchgeführt.

Die Befunde sind in den Tabellen V, VI und VII niedergelegt. (Siehe S. 180—183.)

Wir sehen, daß bereits eine 1stünd. Einwirkung von 1 ccm n/10 Lauge auf 6 ccm Aufschwemmung von Bac. prodigiosus genügt hat, um die Katalase völlig zu inaktivieren. Die Entwicklung der so behandelten Bakterien auf Bouillonagar ist nur wenig beeinträchtigt. Die Peroxydasereaktion ist noch positiv. Auffallend ist die beschleunigende Wirkung des Enzyms nach Behandlung mit n/100 und n/50 Salzsäure, die nach Behandlung mit Normallauge aber noch stärker zum Ausdruck kommt. Man kann dieses Ergebnis vielleicht dahin deuten, daß durch die Vorbehandlung mit der Säure oder Lauge der angegebenen Stärke die Zellmembranen der Mikroben für das Hydroperoxyd leichter durchlässig werden, ohne dabei das Protoplasma und seine Einschlüsse zu schädigen und infolgedessen die Endokatalase schneller angreifen kann. Im übrigen wirkt aber die Lauge in höherer Konzentration weniger stark inaktivierend wie die Säure. Selbst nach Behandlung mit n/5 Natronlauge war noch wirksame Katalase zugegen, erst mit n/1 Natronlauge war die Inaktivierung zu erzielen. Auch die Entwicklung der Bakterien auf Agar war hier durch die Einwirkung der n/1 Lauge unterbunden. Die Peroxydasereaktion war jedoch in allen Fällen positiv.

Die Katalase von Bac. pyocyaneus verhielt sich gegen die Einwirkung der Säure sowohl wie die der Lauge etwas widerstandsfähiger. Erst die n/5 Salzsäure und 2n-Natronlauge hatten die Inaktivierung des Enzyms bewirken können. Die reaktionsbeschleunigende Wirkung war hier durch die Vorbehandlung mit den schwächeren Normallösungen noch deutlicher zutage getreten wie bei Bac. prodigiosus. Das Wachstum auf Bouillonagar war erst durch die Behandlung mit n-Salzsäure und andererseits 2n-Natronlauge unterdrückt worden. Die Peroxydase war durch die Säure und Lauge nicht in ihrer Reaktionsstärke beeinträchtigt.

Bei Staphylococcus pyogenes albus hatte zum Unterschied von den beiden ersteren Bakterienspezies weder Säure noch Lauge in geringerer Konzentration eine beschleunigtere Gasentbindung aus dem Wasserstoffsuperoxyd gegenüber der Kontrolle verursacht. Die n/25 Salzsäure hatte bereits starke Katalasehemmung hervorgerufen, durch n/10 Salzsäure war, wie bei Bac. prodigiosus, Inaktivierung des Enzyms erfolgt. Analog der Wirkung von n/1 Natronlauge auf Bac. prodigiosus war auch die auf Staphylococcus pyogenes albus. Die Katalase hatte ihre Aktivität verloren. Trotzdem entwickelte sich Staphylococcus albus noch nach Aufimpfung auf Bouillonagar, wenn auch das Wachstum schwächer war wie bei der Kontrolle; die Zellen hatten also ihre Lebensfähigkeit nur teilweise eingebüßt. Die Peroxydasereaktion war in der ganzen Reihe, wie vorher, positiv.

Vergleicht man die Resultate, die mit den verschiedenen Stämmen

Tab

Zeit	Kontrolle $^1/_{10}$ stark	Vorbehandlung mit Salzsäure			
		$\frac{n}{100}$ HCl	$\frac{n}{50}$ HCl	$\frac{n}{25}$ HCl	$\frac{n}{10}$ H
1′	1,0 ccm O	1,0 ccm O	1,1 ccm O	1,8 ccm O	0,1 cc
2′	1,6 „ „	2,6 „ „	3,5 „ „	4,4 „ „	
3′	2,8 „ „	6,8 „ „	7,0 „ „	6,9 „ „	
4′	4,5 „ „	13,4 „ „	12,0 „ „	9,0 „ „	
5′	8,3 „ „	20,1 „ „	18,5 „ „	11,9 „ „	
6′	12,1 „ „	27,0 „ „	25,0 „ „	15,0 „ „	
7′	16,2 „ „	6′30″ : 30,0 „ „	6′55″ : 30,0 „ „	18,2 „ „	
8′	21,1 „ „	.	.	22,0 „ „	
9′	25.5 „ „	.	.	25,5 „ „	
10′	29,6 „ „	.	.	28,9 „ „	0,1 cc
20′	10′7″ : 30,0 „ „	.	.	10′20″ : 30,0 „ „	
30′	.	.	.	.	
60′	.	.	.	.	
90′	.	.	.	.	
120′	.	.	.	.	
180′	.	.	.	.	
240′	.	.	.	.	
18h	.	.	.	.	0,2 ccn
Wachstum auf Bouillonagar	+	+	+	+	+
Peroxydasereaktion	+	+	+	+	+

Tabe
B

Zeit	Kontrolle $^1/_5$ stark	Vorbehandlung mit Salzsäure					
		$\frac{n}{100}$ HCl	$\frac{n}{50}$ HCl	$\frac{n}{25}$ HCl	$\frac{n}{10}$ HCl	$\frac{n}{5}$ HCl	$\frac{n}{1}$ HC
1′	1,1 ccm O	2,4 ccm O	2,2 ccm O	2,7 ccm O	0,0 ccm O	0 ccm O	0 ccm
2′	2,9 „ „	13,8 „ „	13,8 „ „	13.1 „ „			
3′	6,3 „ „	24,9 „ „	24,2 „ „	17,0 „ „			
4′	12,7 „ „	3′55″ : 30,0 „ „	3′35″ : 30,0 „ „	24,7 „ „			
5′	18,6 „ „	.	.	28,8 „ „	0,2 „ „		
6′	24,1 „ „	.	.	5′25″ : 30,0 „ „			
7′	28,5 „ „	.	.	.			
8′	7′22″ : 30 „ „	.	.	.			
9′	.	.	.	.			
10′	.	.	.	.	0,4 „ „		
20′	.	.	.	.			
30′	.	.	.	.	0,9 „ „		
60′	.	.	.	.	1,3 „ „	0 „ „	0 „
5h	.	.	.	.			
18h	.	.	.	.	1,4 „ „	0,2 „ „	0,2 „
Wachstum auf Bouillonagar	+	+	+	+	+	+	—
Peroxydasereaktion	+	+	+	+	+	+	+

V.
prodigiosus.

Vorbehandlung mit Natronlauge

$\frac{n}{100}$ NaOH	$\frac{n}{50}$ NaOH	$\frac{n}{25}$ NaOH	$\frac{n}{10}$ NaOH	$\frac{n}{5}$ NaOH	$\frac{n}{1}$ NaOH
1,0 ccm O	1,1 ccm O	1,9 ccm O	0,2 ccm O	0,0 ccm O	0,0 ccm O
3,5 „ „	4,0 „ „	4,4 „ „	0,5 „ „		
10,0 „ „	7,0 „ „	7,5 „ „	↓	↓	↓
18,5 „ „	10,5 „ „	11,8 „ „			
26,4 „ „	14,7 „ „	16,1 „ „	1,4 „ „	0,2 „ „	0,1 „ „
5'35" : 30,0 „ „	19,5 „ „	20,5 „ „	↓	↓	↓
.	25,0 „ „	24,3 „ „			
.	30,5 „ „	28,0 „ „			
.	.	8'40 : 30,0 „ „	3,5 „ „	0,3 „ „	0,1 „ „
.	.	.	11,9 „ „	↓	
.	.	.	20,4 „ „	1,2 „ „	
.	.	.	über 30,0 „ „	2,5 „ „	
.	.	.	.	3,0 „ „	
.	.	.	.	3,5 „ „	
.	.	.	.	4,3 „ „	
.	.	.	.	5,3 „ „	
.	.	.	.	6,0 „ „	0,3 „ „
+	+	+	+	+ [1])	—
+	+	+	+	+	+

1) Kein homogener Belag, sondern Einzelkolonien.

VI.
pyocyaneus.

Vorbehandlung mit Natronlauge

$\frac{n}{100}$NaOH	$\frac{n}{50}$NaOH	$\frac{n}{25}$NaOH	$\frac{n}{10}$NaOH	$\frac{n}{5}$ NaOH	$\frac{n}{1}$NaOH	$\frac{2}{1}$nNaOH	$\frac{4}{1}$nNaOH
2,6 ccm O	3,8 ccm O	3,2 ccm O	4,5 ccm O	0,6 ccm O	0,0 ccm O	0,0 ccm O	0,0 „ „
14,0 „ „	20,9 „ „	22,0 „ „	25,5 „ „	1,3 „ „			
26,5 „ „	2,15" : 30,0 „ „	2'20" : 30,0 „ „	2'23" : 30,0 „ „	1,9 „ „			
3'20" : 30,0 „ „	.	.	.	2,2 „ „			
.	.	.	.	2,6 „ „			
.	.	.	.	↓			
.	.	.	.				
.	.	.	.				
.	.	.	.				
.	.	.	.	4,0 „ „	0,2 „ „		
.	.	.	.	8,0 „ „	↓		
.	.	.	.	13,8 „ „	0,4 „ „	↓	↓
.	.	.	.	19,2 „ „	1,6 „ „	0,0 „ „	0,0 „ „
.	.	.	.	über 30,0 ccm O	↓	↓	↓
.	.	.	.	.	4,8 „ „	0,2 „ „	0,2 „ „
+	+	+	+	+	+	—	—
+	+	+	+	+	+	+	+

Tabelle
Staphylococcus

Zeit	Kontrolle $^1/_{10}$ stark	Vorbehandlung mit Salzsäure			
		$\frac{n}{100}$ HCl	$\frac{n}{50}$ HCl	$\frac{n}{25}$ HCl	$\frac{n}{10}$ HCl
1′	1,0 ccm O	1,1 ccm O	0,6 ccm O	0,2 ccm O	0,1 ccm O
2′	3,3 „ „	3,7 „ „	1,6 „ „		
3′	7,3 „ „	8,6 „ „	2,4 „ „		
4′	13,0 „ „	14,5 „ „	6,1 „ „	↓	↓
5′	19,0 „ „	19,7 „ „	9,5 „ „	0,3 „ „	0,1 „ „
6′	23,2 „ „	23,8 „ „	13,0 „ „		
7′	26,8 „ „	27,1 „ „	16,2 „ „		
8′	29,6 „ „	29,5 „ „	19,0 „ „		
9′	8′8″ : 30,0 „ „	8′11″ : 30,0 „ „	21,8 „ „	↓	↓
10′	.	.	24,3 „ „	0,3 „ „	0,1 „ „
20′	.	.	12′22″ : 30,0 „ „	0,5 „ „	
30′	.	.	.	1,0 „ „	
60′	.	.	.	1,7 „ „	
90′	.	.	.	2,2 „ „	
120′	.	.	.	2,7 „ „	↓
18h	.	.	.	3,5 „ „	0,3 „ „
Wachstum auf Bouillonagar	+	+	+	+	+ [1]
Peroxydasereaktion	+	+	+	+	+

1) Kein Bakterienrasen, sondern vereinzelte.

erhalten wurden, untereinander, so fällt die Variabilität der Bakterienkatalase gegen Säure und Lauge auf. Man vermißt Uebereinstimmungen, die auf bestimmte Gesetzmäßigkeiten schließen lassen. Das Ergebnis ist aber durchaus nicht verwunderlich, denn man muß immer berücksichtigen, daß ja keine reine Katalase, nur Reinkulturen von Bakterien zu den Untersuchungen benutzt wurden, die sich als solche gegenüber den angeführten Agentien bereits verschieden verhalten.

Eines geht jedoch aus den Untersuchungen unzweifelhaft hervor, nämlich daß es möglich ist, mit Hilfe von Säure die Katalase vollständig zu inaktivieren, o h n e die Lebensfähigkeit der Bakterienkultur zu zerstören.

Zur Feststellung der Widerstandskraft der Bakterienkatalase gegen J o d wurde folgendermaßen verfahren:

Je 1 ccm der $^1/_1$ starken Bakterienaufschwemmung wurde mit je 5 ccm sterilem Wasser verdünnt, darauf wurden wechselnde, aber bestimmte Mengen einer 4 Proz. freies Jod enthaltenden Jodjodkalilösung (1,0 J, 2,0 KJ und steriles Wasser ad 25 ccm) hinzugefügt, je auf 10 ccm aufgefüllt und in Zentrifugenröhrchen unter häufigem Schütteln 1 Std. stehen gelassen. Dann wurde mit einer auf die Jodlösung eingestellten Natriumthiosulfatlösung entfärbt und auf je 20 ccm mit sterilem Wasser aufgefüllt, zentrifugiert, die klare überstehende Flüssigkeit abgehebert, nochmals auf 20 ccm aufgefüllt, wieder zentrifugiert und nochmals abgehebert; zum Schluß wurde auf je 10 ccm aufgefüllt, gut durchgeschüttelt und je 1 ccm (= $^1/_{10}$ starke Aufschwemmung) oder je 2 ccm (= $^1/_5$ starke Aufschwemmung) zur Katalasebestimmung verwandt. Es ist nötig, die Bakterien so gründlich auszuwaschen, weil die Resultate sonst unbrauchbar werden. Beim Stehen mit dem Wasserstoffsuperoxyd wird nämlich aus dem Jodjodkali Jod frei, kenntlich an der eintretenden Gelbfärbung, und dieses seinerseits zersetzt das Wasserstoffsuperoxyd unter Sauerstoffentwicklung.

VII.
pyogenes albus.

Vorbehandlung mit Natronlauge

$\frac{n}{100}$ NaOH	$\frac{n}{50}$ NaOH	$\frac{n}{25}$ NaOH	$\frac{n}{10}$ NaOH	$\frac{n}{5}$ NaOH	$\frac{n}{1}$ NaOH
0,5 ccm O	0,5 ccm O	1,0 ccm O	1,0 ccm O	0,3 ccm O	0,1 ccm O
1,5 „ „	1,5 „ „	3,5 „ „	2,9 „ „	0,8 „ „	
2,7 „ „	2,6 „ „	6,8 „ „	5,7 „ „	1,4 „ „	
4,0 „ „	4,0 „ „	10,4 „ „	8,8 „ „	2,5 „ „	
5,4 „ „	5,6 „ „	13,8 „ „	11,8 „ „	4,2 „ „	0,1 „ „
7,5 „ „	7,6 „ „	17,2 „ „	15,1 „ „	6,6 „ „	
10,1 „ „	10,1 „ „	20,4 „ „	17,8 „ „	9,0 „ „	
12,6 „ „	13,0 „ „	22,7 „ „	20,0 „ „	11,3 „ „	
15,1 „ „	15,5 „ „	25,0 „ „	22,5 „ „	13,9 „ „	
17,2 „ „	17,7 „ „	27,2 „ „	24,8 „ „	16,4 „ „	0,1 „ „
16'8": 30,0 „ „	15'55": 30,0 „ „	11'20": 30,0 „ „	12'20": 30,0 „ „	16': 30,0 „ „	
.	.	.	.	.	
.	.	.	.	.	
.	.	.	.	.	
.	.	.	.	.	
.	.	.	.	.	0,3 „ „
+	+	+	+	+	+ [2]
+	+	+	+	+	+

2) zahlreiche kleine Einzelkolonien.

Man ersieht aus der Tabelle VIII, daß die Katalase von Bac. prodigiosus schon durch äußerst geringe Mengen von Jod (0,1 ccm JJK-Lösung, entsprechend 0,0004 Proz. freiem Jod in $^1/_{10}$ Stärke der Bakterienaufschwemmung) ungünstig beeinflußt wird. Die Hemmung der Katalase nimmt mit steigender Jodmenge langsam zu. Bei 1stünd. Einwirkung von 1 ccm Jodjodkalilösung (entsprechend 0,004 Proz. freien Jods der $^1/_{10}$ starken Aufschwemmung) ist die Prodigiosus-Katalase vollständig inaktiviert. Dieselbe Jodmenge genügte nicht, um die Entwicklung des Bakteriums auf Bouillonagar zu verhindern.

Die Bac. pyocyaneus-Katalase wurde zwar von geringen Jodmengen schon bedeutend stärker geschädigt als die von Bac. prodigiosus, nichtsdestotrotz blieb aber selbst nach Einwirkung von 0,004 Proz. Jod (= 1,0 ccm JJK-Lösung) die Katalase noch ganz schwach wirksam. Die doppelte Menge Jodjodkalilösung hatte vollkommene Katalase-, nicht aber Entwicklungshemmung verursacht.

Bei Staphylococcus wiederum war ein langsames Ansteigen der Schädigung der Katalase durch das Jod zu verzeichnen. Aber auch hier waren 2 ccm Jodjodkalilösung notwendig, um sämtliche Katalase zu inaktivieren. Staphylococcus war nach dieser Behandlung auf Bouillonagar nicht mehr entwicklungsfähig.

Eine beschleunigende Wirkung gegenüber der Kontrolle, wie sie bei Bac. prodigiosus und Bac. pyocyaneus durch Säure in geringer Konzentration und bei den beiden sowie bei Staphylococcus albus durch sehr verdünnte Lauge erreicht worden war, ließ sich bei der Einwirkung des Jods auf die Katalase nicht beob-

Tabelle

Zeit	Bac. prodigiosus Kontrolle ($^1/_5$ stark)	Vorbehandlung mit 0,1 ccm JJK	0,25 ccm JJK	0,5 ccm JJK	1,0 ccm JJK	2 ccm JJK
	ccm O	ccm O	ccm O	ccm O	ccm O	ccm O
1′	0,4	0,2	0,1	0,1	0,0	0,0
2′	0,6	↓	↓	↓	↓	↓
3′	1,4	↓	↓	↓	↓	↓
4′	2,6	↓	↓	↓	↓	↓
5′	4,2	0,7	0,5	0,5	↓	↓
6′	5,0	↓	↓	↓	↓	↓
7′	7,1	↓	↓	↓	↓	↓
8′	9,3	↓	↓	↓	↓	↓
9′	11,6	↓	↓	↓	↓	↓
10′	14,3	4,2	1,2	1,2	↓	↓
15′	25,5	9,2	2,5	2,1	↓	↓
20′	17′45″ : 30,0	15,1	4,7	3,3	↓	↓
30′	.	↓	10,2	6,5	↓	↓
60′	.	über 30,0	19,5	12,8	0,0	↓
75′	.	.	21,5	↓	↓	↓
90′	.	.	↓	↓	↓	↓
18h	.	.	über 30,0	21,9	0,0	0,0
Entwicklung auf Bouillonagar	+	+	+	+	—	—
Peroxydasereaktion	+	+	+	+	+	+

achten. Die Peroxydase war bei allen 3 Stämmen durch die Jodbehandlung nicht merkbar beeinträchtigt worden.

Die Prüfung der Resistenz der Katalase gegen Schwefelkohlenstoff wurde in folgender Weise durchgeführt:

Je 1 ccm $^1/_1$ starker Bakterienaufschwemmung wurde mit je 9 ccm gesättigtem Schwefelkohlenstoffwasser in fest verschlossenen Reagenzgläsern unter bisweiligem Umschütteln bei Zimmertemp., vor Licht geschützt, aufgestellt. Zu verschiedenen, in der Tabelle IX angegebenen Zeiten wurde je ein Röhrchen herausgenommen, der Inhalt in ein weites steriles Reagenzrohr übergeführt und der Schwefelkohlenstoff durch Durchtreiben eines keimfreien Luftstromes vollständig entfernt.

Der Schwefelkohlenstoff vermochte die Katalase von Bac. prodigiosus innerhalb von 20 Std. bereits stark zu hemmen. Während bei der Kontrolle die $^1/_{10}$ starke Aufschwemmung innerhalb 13 Min. 30 ccm Sauerstoff aus dem Hydroperoxyd entwickelt hatte, wurden nach 20stünd. Einwirkung des Schwefelkohlenstoffwassers bei Anwendung $^1/_{10}$ starker Aufschwemmung nurmehr 4,9 ccm, bei $^1/_5$ starker Aufschwemmung 10,1 ccm Gas nach 20 Std. langer Beobachtungszeit aus dem Wasserstoffsuperoxyd gebildet. Nach 3 Tagen waren — in $^1/_2$ starker Aufschwemmung geprüft — innerhalb 4 Std. allerdings noch 22 ccm Gas entwickelt, nach 4tägiger Einwirkung nurmehr 11,8, nach 5tägiger 3,8 ccm und nach 6 Tagen war durch den Schwefelkohlenstoff Inaktivierung der Katalase eingetreten. Die Zellen waren aber bereits nach 3tägigem Stehen mit Schwefelkohlenstoffwasser ihrer Lebensfähigkeit verlustig gegangen.

VIII.

Bac. pyocyaneus Vorbehandlung mit						Staphylococc. pyog. albus Vorbehandlung mit					
Kontrolle ($^1/_5$ stark)	0,1 ccm JJK	0,25 ccm JJK	0,5 ccm JJK	1,0 ccm JJK	2,0 ccm JJK	Kontrolle ($^1/_{10}$ stark)	0,1 ccm JJK	0,25 ccm JJK	0,5 ccm JJK	1,0 ccm JJK	2,0 ccm JJK
ccm O	ccm O	ccm O	ccm O	ccm O	ccm O	ccm O	ccm O	ccm O	ccm O	ccm O	ccmO
1,0	0,2	0,1	0,0	0,0	0,0	0,8	0,5	0,5	0,3	0,1	0,0
1,8	0,3	0,3				2,1	1,4	0,9	0,6		
3,0	0,5	0,4				5,0	2,6	1,4	1,3		
7,2	0,6	↓				8,7	5,0	2,0	1,9		
12,5	0,7	0,5				12,0	7,8	2,6	2,5	0,7	
18,5						16,8	10,5	3,2			
24,0						21,0	13,4	4 6			
29,0						25,5	16,0	5,8			
8'15":30,0	↓	↓	↓			29,5	17,9	6,8		↓	
.	1,3	0,7	0,7			9'8":30,0	20,0	7,7		2,0	
.	1,8	↓	↓			.	28,0	13,6			
.	2,4	1,2	1,3			.	16':30,0	17,2	↓		
.	3,5	1,8	1,9	0,2		.	.	21,5	12,2		
.	5,4	2,8	2,4	0,4		.	.	28,0	16,0		
.	↓	↓	↓	↓		.	.	↓	↓		
.	6,5	3,5	3,0	↓		.	.	80':30,0	↓		
.	10,1	7,0	5,4	0,9	0,0	.	.	.	20,5	6,2	0,0
+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	−
+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+

Bei Staphylococcus pyogenes aureus war die hemmende Wirkung des Schwefelkohlenstoffs auf die Katalase bei weitem nicht so stark wie bei den vorerwähnten Spezies. Hier war nach 5tägiger Einwirkung noch aktive Katalase in $^1/_{10}$ starker Aufschwemmung nachweisbar, aber auch hier ging die Entwicklungsfähigkeit der Kultur früher verloren.

Interessant war auch die Schwefelkohlenstoffwirkung auf den Sporenbildner Bac. fusiformis. Die Aufschwemmung stammte von einer 5 Tage alten Möhrenagarkultur, in der an sich die Katalaseaktivität gering ist, wie die Kontrollbestimmung mit $^1/_{10}$ starker Aufschwemmung erkennen ließ. Die Schädigung der Katalase war bereits nach 2 Tagen sehr stark, nahm aber nur langsam zu und blieb auf einer gewissen Grenze längere Zeit stehen. Es waren so z. B. nach 5tägiger Einwirkung des Schwefelkohlenstoffs mit $^1/_1$ starker Aufschwemmung innerhalb von 20 Std. nur 1,8 ccm Gas erhalten worden; die gleiche Menge wurde aber auch nach 10 Tage langer Wirkungsdauer des Schwefelkohlenstoffs innerhalb derselben Zeit von 20 Std. abgelesen. Die Keimfähigkeit der Sporen hatte darunter nicht, oder doch wenigstens nicht sichtlich, gelitten.

Die Peroxydase hat sich auch gegen den Schwefelkohlenstoff bei allen Bakterienspezies als resistent erwiesen.

Nicht so nachteilig wie der Schwefelkohlenstoff wirkte ein Chloroform-Acetongemisch auf die Katalase von Bac. prodigiosus (Tabelle X, S. 188 u. 189.)

Tabelle

Zeit	Bac. prodigiosus Einwirkungsdauer des Schwefelkohlenstoffes						
	Kontrolle ($^1/_{10}$ stark)	20 Std. ($^1/_{10}$ stark)	20 Std. ($^1/_5$ stark)	3 Tage ($^1/_2$ stark)	4 Tage ($^1/_2$ stark)	5 Tage ($^1/_2$ stark)	6 Tage ($^1/_2$ stark)
	ccm O	ccm O	ccm O	ccm O	ccm O	ccm O	ccm O
1′	0,6	0,1	0,2	0,1	0,1	0,0	0,0
2′	1,5	0,1	↓	↓	↓	↓	↓
3′	2,8	↓	↓	↓	↓	↓	↓
4′	5,0	↓	↓	↓	↓	↓	↓
5′	7,5	↓	↓	0,4	0,6	↓	↓
6′	10,5	↓	↓	↓	↓	↓	↓
7′	13,7	↓	↓	↓	↓	↓	↓
8′	16,6	↓	↓	↓	↓	↓	↓
9′	19,7	↓	↓	↓	↓	↓	↓
10′	22,5	0,2	0,6	0,7	↓	↓	↓
20′	13′: 30,0	0,4	1,7	1,0	↓	↓	↓
30′	.	0,6	2,1	1,6	3,1	0,6	↓
60′	.	1,0	3,1	3,0	5,0	1,3	0,1
120′	.	1,5	↓	9,6	7,7	2,0	0,2
180′	.	2,2	↓	17,0	9,9	↓	↓
240′	.	↓	↓	22,0	11,8	3,8	0,3
300′	.	↓	↓	↓	13,1	4,6	0,3
20h	.	4,9	10,1	mehr als 30,0	15,3	6,2	0,3
Entwicklung auf Bouillon-agar	+	+		—	—	—	—
Peroxydase-reaktion	+	+		+	+	+	+

Versuchsanordnung: Je 1 ccm $^1/_1$ starker Aufschwemmung wurde mit 9 ccm sterilem Wasser verdünnt und 0,1 ccm eines Gemisches gleicher Volumina Chloroform und Aceton zugesetzt. Die Röhrchen wurden mit Korkstopfen verschlossen, kräftig durchgeschüttelt und bei 27° in den Thermostaten gebracht. Zur Katalasebestimmung wurde jeweils ein Röhrchen herausgenommen und das Chloroform-Aceton mittels eines kräftigen Luftstromes, wie der Schwefelkohlenstoff, daraus entfernt.

Innerhalb von 5 Std. war bei Bac. prodigiosus bereits eine merkliche Verzögerung in der Gasbildung durch die Katalase festzustellen; dieselbe verstärkte sich noch weiter wesentlich nach 20stünd. Wirkungsdauer. Von da an nahm sie verhältnismäßig weniger stark ab, und es waren nach 5 Tagen in $^1/_1$ starker Aufschwemmung innerhalb 4 Std. immer noch 18,6 ccm Sauerstoff gebildet. Die Bakterienkultur selbst war jedoch bereits nach einem Tage durch das Narkotikum abgetötet.

Bei Bac. pyocyaneus-Katalase ist der Einfluß des Chloroformgemisches innerhalb der ersten 5 Std. relativ gering, auch nach 20 Std. ist er noch nicht groß, wenngleich nach dieser Zeit eine Entwicklung der Bakterien auf Agar bereits nicht mehr eintrat; erst nach 44 Std. war er etwas größer, die Schwächung nahm aber nur langsam ab. Nach 5 Tagen war die Katalase noch keineswegs inaktiviert.

Im allgemeinen scheint die Katalase gegen das Narkotikum resistenter zu sein als gegen die vorher besprochenen Agentien, und es ist bemerkenswert, daß dasselbe im Gegensatz zur Säure, Lauge und dem Jod, jedoch in Uebereinstimmung mit dem Schwefelkohlenstoff,

IX.

Staphyloc. pyogenes aur.					Bacillus fusiformis[1])					
	Einwirkungsdauer des Schwefelkohlenstoffes					Einwirkungsdauer des Schwefelkohlenstoffes				
Kontrolle ($^1/_{10}$ stark)	20 Std. ($^1/_{10}$ stark)	2 Tage ($^1/_{10}$ stark)	4 Tage ($^1/_{10}$ stark)	5 Tage ($^1/_{10}$ stark)	Kontrolle ($^1/_1$ stark)	2 Tage ($^1/_1$ stark)	3 Tage ($^1/_1$ stark)	5 Tage ($^1/_1$ stark)	7 Tage ($^1/_1$ stark)	10 Tage ($^1/_1$ stark)
ccm O	ccm O	ccm O	ccm O	ccm O	ccm O	ccm O	ccm O	ccm O	ccm O	ccm O
0,8	0,6	0,3	0,1	0,1	0,1	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
3,6	2,2	0,8	0,3							
10,0	5,2	1,3	0,5							
17,9	9,1	1,9	0,7							
24,2	13,4	2,8	0,9		0,2					
29,6	17,4	3,9								
6′5″: 30,0	21,0	5,2								
.	24,0	6,7								
.	27,2	8,1								
.	30,0	9,5	2,0	0,3	0,5					
.	.	18,5	3,7	0,9	1,0					
.	.	23,2	5,2	1,2	1,6	0,1				
.	.	29,2	8,0	2,5	4,9	0,2	0,1	0,1	0,1	0,1
.	.	63′: 30,0	12,0		9,0	0,4				
.	.	.				0,5				
.	.	.				0,7				
.	.	.								
.	.	.	15,7	4,0	20,8	2,6	2,1	1,8	1,8	1,8
+	+	+	—	—	+	+	+	+	+	+
+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+

die Lebensfunktionen der Zellen sistiert, ohne die Katalasewirksamkeit auszuschalten.

Fügte man einige Tropfen Chloroform einer Bakterienaufschwemmung nach dem Verdünnen mit Wasser aber kurz vor dem Zusatz des Wasserstoffsuperoxyds zu, so wirkte dieser Chloroformzusatz sogar übereinstimmend zu Anfang beschleunigend. Wenn man sich vergegenwärtigt, daß die Katalase bei Bakterien als Ekto- und Endoenzym vorkommt[2]), so ließe sich diese Erscheinung vielleicht auch damit erklären, daß das vorhandene Chloroform die Permeabilität der Zellen für Wasserstoffsuperoxyd steigert, ohne in dieser Zeit auf die Zelle einen schädlichen Einfluß auszuüben, und daß durch den leichteren Zutritt des Wasserstoffsuperoxyds zu dem Endoenzym die anfänglich erzeugte Sauerstoffmenge größer ist, als die der unbehandelten lebenden Kultur. Am Versuchsschluß war ein Unterschied zwischen der hierbei gebildeten Gasmenge und derjenigen der Kontrolle nicht mehr vorhanden.

Schädliche Einflüsse auf die Katalase besitzt das Chloroform in dieser Menge und nach so kurzer Wirkungsdauer demnach nicht.

Jacobi[3]), der zur Abtötung von Proteus-Bakterien Toluol anwandte, konnte innerhalb von $22^3/_4$ Std. überhaupt keine Schwächung der Katalase beobachten, und schließt daraus, daß das Toluol auch bei längerer Einwirkung für die Bakterienkatalase unschädlich sei.

In enger Anlehnung an die Jacobischen Versuche wurden solche

1) Die Aufschwemmungen von Bac. fusiformis stammten von einer 5 Tage alten Möhrenagarkultur.

2) Siehe Loew, O., Zur Unterscheidung zweier Arten Katalase. (Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. 10. 1903. S. 177.)

3) Jacobi, M., Ueber Fermentbildung. (Biochem. Zeitschr. Bd. 88. 1918. S. 35.)

Tabelle

Zeit	Bac. prodigiosus Einwirkungsdauer des Chloroform-Acetongemisches						
	Kontrolle ($^1/_{10}$ stark)	5 Std. ($^1/_{10}$ stark	20 Std. ($^1/_{10}$ stark)	20 Std. ($^1/_5$ stark)	44 Std. ($^1/_5$ stark)	68 Std. ($^1/_5$ stark)	116 Std. ($^1/_5$ stark)
	ccm O	ccm O	ccm O	ccm O	ccm O	ccm O	ccm O
1′	0,4	0,2	0,2	0,5	0,2	0,1	0,1
2′	0,9	↓	↓	↓	↓	↓	↓
3′	1,7	↓	↓	↓	↓	↓	↓
4′	3,0	↓	↓	↓	↓	↓	↓
5′	4,5	1,2	0,6	1,3	↓	↓	↓
8′	12,7	↓	↓	↓	↓	↓	↓
10′	18,5	2,3	1,1	3,2	↓	↓	↓
15′	14′20″ : 30,0	4,0	↓	7,4	7,0	4,6	3,0
20′	.	↓	↓	12,9	↓	↓	↓
30′	.	10,9	↓	21,0	19,3	8,0	↓
45′	.	17,3	3,1	29,6	23,8	10,5	6,5
60′	.	19,6	↓	46′ : 30,0	29,0	13,0	7,8
120′	.	23,9	7,0	.	64′ : 30,0	19,5	10,0
180′	.	28,0	↓	.	.	25,5	15,0
240′	.	220′ : 30,0	9,4	.	.	30,0	18,6
24h	.	.	17,2	.	.	.	25,0
Entwicklung auf Bouillonagar	+	+	−		−	−	−
Peroxydasereaktion	+	+	+		+	+	+

mit Bac. prodigiosus und Bac. pyocyaneus durchgeführt, nur wurde die Wasserstoffsuperoxydzersetzung in der Gasbürette und nicht durch Kaliumpermanganattitration geprüft.

Es ergab sich bereits nach $2^1/_2$stünd. Aufbewahren der mit Toluol versetzten Aufschwemmungen bei 27° eine geringe Schwächung der Bakterienkatalase, die sukzessive nach 20, 44 und 68 Std. weiter fortschritt; bemerkenswert war dabei, daß die Katalase von Bac. prodigiosus in den einzelnen Zeitabschnitten stärker geschwächt wurde als die von Bac. pyocyaneus. Die Versuchsergebnisse ließen jedenfalls deutlich erkennen, daß die Bakterienkatalase durchaus nicht indifferent gegen Toluol war.

Die Peroxydasereaktion mit Benzidin fiel nach 5tägiger Einwirkung der Chloroformmischung und des Toluols sowohl mit Bac. prodigiosus wie mit Bac. pyocyaneus noch positiv aus.

Die Peroxydase, so hat sich also gezeigt, wird durch chemisch- bzw. physiologisch-aktive Stoffe, wie Säure, Lauge, Jod, Schwefelkohlenstoff und Chloroform, in Mengen, die nicht nur die Katalase, sondern die vegetative Bakterienzelle selbst stark schädigen, nicht nachteilig beeinflußt.

Bei den Versuchen mit Schwefelkohlenstoff und Chloroform waren teilweise Kontrollen mitangesetzt worden, die darüber Aufklärung bringen sollten, ob die Katalase in Aufschwemmungen mit reinem sterilisiertem Wasser ohne sonstige Zusätze mehrere Tage hindurch unverändert haltbar war, oder ob vielleicht eine derartige Aufbewahrung eine merkliche Einbuße an wasserstoffsuperoxydzersetzen-

X.

	Bac. pyocyaneus Einwirkungsdauer des Chloroform-Acetongemisches				
Kontrolle ($^1/_5$ stark)	5 Std. ($^1/_5$ stark)	20 Std. ($^1/_5$ stark)	44 Std. ($^1/_5$ stark)	68 Std. ($^1/_5$ stark)	116 Std. ($^1/_5$ stark)
ccm O	ccm O	ccm O	ccm O	ccm O	ccm O
1,0	0,6	0,6	0,3	0,1	0,1
2,7	↓	↓	↓	↓	↓
8,0					
16,5	↓	↓			
23,8	7,8	2,2			
5'55" : 30,0	↓	↓	↓	↓	↓
.	22,0	5,2	4,0		
.	14' : 30,0	8,0	↓	2,8	1,6
.	.	11,0	5,8	↓	↓
.	.	15,9	7,0	5,1	2,8
.	.	19,5	8,2	7,0	↓
.	.	21,5	9,4	8,5	4,0
.	.	25,5	11,0	10,5	5,0
.	.	↓	12,5	12,4	↓
.	.	28,8	↓	13,8	6,2
.	.	275' : 30,0	18,4	16,5	10,0
+	+	—	—	—	—
+	+	+	+	+	+

der Kraft bewirkte. Es war natürlich darauf geachtet worden, daß Fremdinfektion vermieden wurde.

Die Katalasewirksamkeit war in den Röhrchen, die bis zu 5 Tagen aufbewahrt waren, nicht verringert, in einigen Fällen war sogar eine Verstärkung der katalytischen Kraft eingetreten, die vielleicht durch eine nicht wesentliche Vermehrung der Bakterien in dem Wasser oder aber auch eine Konzentrationsänderung durch schwache Verdunstung aus dem nur mit Wattebausch verschlossenen Röhrchen zurückgeführt werden kann.

Anhang. Zur Benzidin-Hydroperoxydreaktion.

Wie eingangs erwähnt, ist zum Nachweis von Peroxydasen in pflanzlichen und tierischen Zellen die Benzidinreaktion mehrfach herangezogen worden. In der Bakteriologie hat sie meines Wissens bisher noch keine Anwendung gefunden. Dagegen ist die gleiche Reaktion von O. und R. Adler[1]) zum Nachweis von Blut in Wasser, Harn, Fäzes usw. empfohlen worden. Die Ausführung derselben gestaltete sich nach ihnen folgendermaßen: Eine kleine Probe des zu untersuchenden Materials, z. B. Wasser, wurde mit etwas Wasserstoffsuperoxyd versetzt, dann mit einigen Tropfen Essigsäure angesäuert und hierauf einige Kubikzentimeter einer in der Hitze konzentrierten und nach dem Abkühlen filtrierten alkoholischen Benzidinlösung zugefügt. Auf diese Weise soll Blut noch in einer Verdünnung von 1:100 000 nachweisbar sein. Für die bakteriologischen Zwecke hat es sich als vorteilhafter erwiesen, das Benzidin direkt in Essigsäure (heiß) gelöst anzuwenden und das Reaktionsgemisch mit Wasserstoffsuperoxyd zu überschichten. O. und R. Adler wiesen auch darauf hin, daß man die Benzidinprobe noch in anderer als der eben angegebenen Weise, z. B. mit Harn, vornehmen könne, und zwar derart, daß man zu 10—15 ccm desselben

1) Adler, O. u. R., Ueber das Verhalten gewisser organischer Verbindungen gegenüber Blut mit besonderer Berücksichtigung des Nachweises von Blut. (Zeitschr. f. physiol. Chem. Bd. 41. 1904. S. 59.)

1/2 Vol. Eisessig zusetzt, wodurch das Hämoglobin des etwa vorhandenen Blutes in Hämatin übergeht. Das Hämatin ließe sich mit Aether ausschütteln. Die klare Aetherlösung soll mit einigen Tropfen Wasserstoffsuperoxyd und der Benzidinlösung versetzt werden, und man soll bei Anwesenheit von Blut Grünfärbung erzielen. Schumm und Westphal[2]) haben diese Modifikation ferner zum Nachweis von Blut in Fäzes angewandt, und Schumm[3]) spricht sich dann 1906/07 nochmals für die letztere Methode zum Blutnachweis aus.

Verfuhr man mit den Bakterienaufschwemmungen wie mit Harn und schüttelte mit Aether aus, so ging der die Reaktion auslösende Körper ebenfalls in den Aether über. Die Benzidinreaktion mit diesem Aether fiel positiv aus. Auf solche Weise wurden z. B. Ausschüttelungen geprüft von Bac. prodigiosus, Sarcina flava, Staphylococcus albus Marschall, Semiclostridium commune und Bac. pyocyaneus.

Von einigen Aufschwemmungen wurde der abgeheberte Aether mit sterilem Wasser ausgeschüttelt, um zu prüfen, ob der Körper an das Wasser wieder abgegeben wird, doch blieb die Benzidinreaktion mit dem sich unter der Aetherschicht klar absetzenden Wasser negativ. Die Haltbarkeit der sauren Aetherlösung war nur eine beschränkte; nach 24—48-stünd. Aufbewahrung bei Zimmertemp. war die Peroxydase fast immer zerstört.

Wurde die Aufschwemmung vor der Ausschüttelung mit Aether nicht mit Essigsäure angesäuert, so gab der abgeheberte Aether nicht die Benzidinreaktion, auch nicht, wenn der Aufschwemmung Natronlauge oder Ammoniak zugesetzt war. Man muß sich durch einen blinden Versuch stets vergewissern, ob der Aether an sich nicht bereits positive Reaktion gibt, was stets dann der Fall ist, wenn er Spuren von Aethylperoxyd enthält. An Stelle der Essigsäure lassen sich zum Ansäuern auch andere Säuren, wie Ameisensäure, Propionsäure, Milchsäure, Oxalsäure und auch Phosphorsäure verwenden. Der Aether wiederum kann ersetzt werden durch Essigäther, Chloroform, Benzol, Toluol und Xylol; selbst Alkohol, im Ueberschuß zugesetzt, sodaß die Bakterien ausgefällt werden, ist brauchbar; weniger gut eignet sich Aceton, noch weniger Amylalkohol. Schwefelkohlenstoff ist wegen seiner starken Emulsionsbildung beim Schütteln gänzlich unbrauchbar. Am vorteilhaftesten schien mir die Verwendung von Benzol. Setzt sich das Benzol nach dem Schütteln nicht klar ab, so wird es durch einen geringen Zusatz von Alkohol geklärt.

Unterwarf man die sich nach dem Ansäuern einer Bac. prodigiosus-Aufschwemmung mit Phosphorsäure und Schütteln mit Benzol + Alkohol klar abscheidende Benzolschicht nach dem Abhebern vorsichtig auf dem Wasserbad der Destillation, so fiel sowohl mit einer Probe des Destillates wie mit einer des Destillationsrückstandes die Benzidinprobe negativ aus. Die Peroxydase mußte demnach zerstört sein. Da die Prodigiosus-Peroxydase von allen Bakterienperoxydasen, auf die geprüft wurde, am empfindlichsten gegen höhere Temperaturen war, wurde der Versuch mit der widerstandsfähigeren Peroxydase von Bac. mesentericus niger Zettnow wiederholt. Das Destillat gab eine negative, der Destillationsrückstand sofort eine sehr stark positive Benzidinreaktion. Die Peroxydase ist also bei der Siedetemperatur des Benzols nicht flüchtig. Ließ man ca. 2 ccm des bei der Unterbrechung der Destillation im Kölbchen verbleibenden Restes auf einem Uhrschälchen auf dem Wasserbade verdampfen, so blieb ein hauchartiger, dünner, unter der Lupe betrachtet, aus kleinsten Tröpfchen bestehender Rückstand, der mit Benzidin-Eisessig und Hydroperoxyd innerhalb weniger Sekunden eine intensive Grün- oder Blaufärbung hervorrief.

Brachte man ca. 2 ccm frischer Benzolausschüttelung von Bac. mesentericus-Aufschwemmung im Uhrschälchen bei 50° in den Trockenschrank und ließ 1/2 Std. darin stehen, so war das Benzol verdunstet, und es blieben kleine, schwach bräunlich gefärbte Tröpfchen zurück. Unter dem Mikroskop waren feste Partikel in den Tröpfchen nicht sichtbar. Stellte man daraufhin das Uhrschälchen in den Eisschrank und beließ es 3 Std. bei der tiefen Temperatur von etwa + 1° C, so zeigten die Tröpfchen, unter dem Mikroskop betrachtet, keine Veränderung nach dieser Zeit, Kristalle oder ungeformte feste Teilchen waren nicht abgeschieden.

Nahm man statt Bac. mesentericus niger Zettnow, der sich anscheinend infolge seines hohen Gehaltes an Peroxydase für die Untersuchungen sehr gut eignet, Aufschwemmungen von Bac. pyocyaneus und ließ davon die Benzidinausschütte-

1) Schumm, O., und Westphal, C., Ueber den Nachweis von Blutfarbstoff mit Hilfe der Adlerschen Benzidinprobe. (Zeitschr. f. physiol. Chem. Bd. 46. 1905. S. 510.)

2) Schumm, O., Zur Kenntnis der Guajakblutprobe und einiger ähnlicher Reaktionen. (Ebenda. Bd. 50. 1906/07. S. 347.)

lung auf dem Uhrschälchen verdunsten, so blieb eine fettig aussehende, salbenartig feste Masse zurück, die sich beim Zuträufeln von Benzidin-Essigsäure stark milchig trübte und die Reaktion auf weiteren Zusatz von Wasserstoffsuperoxyd — im Verhältnis zu Bac. mesentericus — nur sehr schwach gab.

Bei der mikroskopischen Prüfung von auf dem Objektträger mit Benzidin-Essigsäure + Hydroperoxyd behandeltem Bakterienmaterial ließ sich in den Zellen im allgemeinen wenig von einer Blaufärbung beobachten. Es scheint nicht, daß die Fetttröpfchen an der Reaktionsauslösung beteiligt sind, vielmehr war bei einigen Zellen eine schwache, aber deutliche Färbung des Plasmas zu sehen. Da andererseits aber auch gerade der sporenbildende Bac. mesentericus niger Zettnow die Reaktion, selbst wenn überwiegend Sporen im Material vorhanden sind, besonders stark gibt, muß angenommen werden, daß der die Reaktion auslösende Faktor, das Enzym, im Zellplasma verteilt zu sein scheint.

Bei der Mischung des Wasserstoffsuperoxyds mit der essigsauren Benzidinlösung vermittels eines Platindrahtes wird bereits durch den letzteren die Reaktion eingeleitet. Nun ist zwar bekannt, daß frisch ausgeglühter und an der Luft erkalteter Platindraht Wasserstoffsuperoxyd unmittelbar zersetzt (siehe auch Odo Bujwid[1]), der dabei freiwerdende Sauerstoff könnte dann die Oxydation des Benzidins verursachen; andererseits aber weiß man, daß das Abkühlen des geglühten Drahtes in sterilem Wasser die Hydroperoxydzersetzung verhindert; es zeigte sich aber keine Reaktionsverminderung bei dem Hineinhalten des so behandelten Drahtes in das Oxydationsgemisch. Man muß deshalb bei derartigen Arbeiten das Hantieren mit dem Platindraht vermeiden und sich zum Mischen dünn ausgezogener und vorn zugeschmolzener Glasröhrchen bedienen.

Das Platin wirkt also als Katalysator. Es ergab sich deshalb die Frage: Bewirken fein verteilte oder kolloidal gelöste Stoffe ebenfalls eine Blau- oder Grünfärbung? Es schien in diesem Falle feinst verteilte Kohle ein besonders geeignetes Prüfungsobjekt zu sein. Eine kleine Messerspitze voll „Carbo animalis für medizinische Zwecke“ von Merck wurde mit Benzidin-Eisessig angeschüttelt und dann Wasserstoffsuperoxyd zugesetzt: Es entstand in wenigen Sekunden eine intensive Blaufärbung! Bei Zusatz nur sehr geringer Mengen Kohle trat Grünfärbung auf. Diese Befunde stimmen mit denen von Schumm und Westphal (14) überein, die auch über den positiven Ausfall der Benzidinprobe mit Carbo animalis puriss. und Platin berichten; ferner sollen Jodkalium sowie metallisches Eisen und Kupfer in Pulverform oder feinen Spänen die Reaktion geben.

Feinst verteilte Schlemmkreide vermochte die Reaktion nicht auszulösen, auch eine Glyzerin-Eiweißlösung gab negative Reaktionen. Ebenso war es nicht möglich, durch fein emulgiertes Olivenöl die Reaktion hervorzurufen. Auch im Pflanzenschutz angewandter kolloidaler Schwefel (von Schülke und Mayer) und ebensolches Naphthalin gaben keine Blau- oder Grünfärbungen.

Daß das die Färbungen mit Benzidin bedingende Enzym nicht identisch ist mit der von Willstätter und Stoll[2]) aus der Meerrettichwurzel gewonnenen Peroxydase wird am klarsten durch die Thermostabilität des ersteren bewiesen. Die Meerrettichwurzel enthält jedoch außer dem das Pyrogallol oxydierenden Enzym auch in reichem Maße die in den Bakterien vorkommende Peroxydase, denn sie gibt die positive Benzidinreaktion und das Enzym läßt sich mit Benzol, wie bei den Bakterien, ausschütteln. Der Verdunstungsrückstand des zur Ausschüttelung benutzten Benzols gibt eine stark positive Benzidin-, aber nicht die Purpurogallinreaktion!

Ebenso wie bei dem Meerrettich, fällt bei der Kartoffel die Benzidinprobe positiv aus; ähnlich verhält es sich mit der Möhre.

Die Untersuchungen haben gezeigt, daß alle Bakterien, mit Ausnahme der Streptococcaceen, die Benzidin-Eisessigreaktion geben. Das ist bei der Anwesenheit dieses Reagenses zum Blutnachweis unbedingt zu berücksichtigen. Nun soll zwar das Vorhandensein von Blut durch den positiven Reaktionsausfall nicht bewiesen sein, sondern mehr Wert auf den negativen Ausfall gelegt werden, der die Abwesenheit von Blut sicher dokumentieren soll. Da Fäzes aber stets stark bakterienhaltig ist und auch Harn. soweit er nicht aseptisch gewonnen und aufbewahrt wird, bei längerem Stehen bakterienreich ist,

1) Bujwid, Odo, Differenzierung von Bakterienkulturen mit Wasserstoffsuperoxyd. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Bd. 77. 1916. S. 440.)

2) Willstätter, R., u. Stoll, Arth., Ueber Peroxydase. (Liebigs Annal. Bd. 416. 1918. S. 21.)

so wird hier die Benzidinprobe nie negativ ausfallen können und erscheint die Heranziehung der Benzidinreaktion in diesen Fällen völlig zwecklos.

Zusammenfassung.

1) In alten, 10 Jahre lang in angetrocknetem Zustande aufbewahrten Bakterienkulturabstrichen war in den meisten Fällen noch wirksame Katalase nachweisbar, am stärksten bei dem Bac. alvei — und hier nicht nur in den Sporen, sondern auch in den Stäbchen —, schwächer in Streptococcus apis, schwach in Bac. coli commune, Bac. fluorescens und Vibrio Dunbar. In Vibrio Dunbar war auch die Katalase qualitativ noch nachweisbar bei Abstrichen von Kulturen, die auf einem Nährboden mit Lithiumsalzzusatz zur Erzeugung teratologischer Wuchsformen gezogen waren. Nur im Erreger der Krebspest war die Katalase zerstört. Alle vegetativen Bakterienformen waren nach der angegebenen Zeit abgestorben; die Sporen waren noch entwicklungsfähig. — 2) Die Art des Eintrocknens der Bakterienkultur war von Einfluß auf die Erhaltung der Katalasewirksamkeit. Mit einigen Tropfen eines Gemisches von gleichen Teilen Chloroform und Aceton versetzte und dann eingetrocknete Bakterienaufschwemmungen enthielten nach $3^1/_2$jähriger Aufbewahrung keine Spur von wirksamer Katalase mehr. Bac. pyocyaneus hatte nach dieser Zeit selbst in einfachen Antrocknungen die Aktivität der Katalase eingebüßt, dagegen war in Aufschwemmungen, die innerhalb von 48 Std. über Schwefelsäure in sogenannten Maulaffen im Exsikkator und dann bei Zimmertemperatur aufbewahrt waren, oder solchen, die in flachen Porzellanschalen angetrocknet und während der ganzen Zeit im Exsikkator über Schwefelsäure gestanden hatten, noch wirksame Katalase vorhanden. — 3) Es hat sich gezeigt, daß die Katalase in Bakterienaufschwemmungen nicht immer in ihrer Beeinflussung durch Stoffe wie Kaliumnitrat, Kaliumchlorat und Kaliumsulfat die Gesetzmäßigkeit zeigt, wie sie Michaelis und Pechstein für Leberkatalase finden konnten. Es ließ sich in einzelnen Fällen unzweifelhaft, z. B. durch Kaliumnitrat, eine deutliche Förderung der Katalasewirksamkeit feststellen. — 4) Ein 1- bis 2stünd. Hindurchleiten von Gasen, wie Sauerstoff, Wasserstoff oder Stickstoff durch die Bakterienaufschwemmungen vor dem Hydroperoxydzusatz, war ohne sichtbaren Einfluß auf die Katalasewirksamkeit geblieben. — 5) Die Katalase-Inaktivierungstemperatur war bei den einzelnen Arten der nichtsporenbildenden Bakterien teilweise verschieden, immer aber genügte ein 15 Min. langes Erhitzen der Bakterienaufschwemmung bei 80° C, um die Katalase vollständig zu inaktivieren. Sporen enthalten ebenfalls wirksame Katalase; dieselbe blieb erhalten, wenn man die Sporen auf 100° erhitzte. Ihre Widerstandsfähigkeit ist abhängig von der vitalen Resistenz der Sporen gegen die Koch-

temperatur. — 6) Anaërob gezüchtete Bakterien waren wesentlich katalaseärmer als bei ungehindertem Sauerstoffzutritt herangewachsene Bakterien derselben Art. Wie die Bakterien verhielten sich auch die Hefen. — 7) Das Minimum der Wasserstoffionenkonzentration für die Wirksamkeit der Katalase lag bei den geprüften Bakterienstämmen Bac. prodigiosus, Staphylococcus pyogenes albus und aureus in allen Fällen unterhalb $p_H = 9{,}1$; das Optimum war übereinstimmend zwischen $p_H = 8$ und $p_H = 7{,}5$ erreicht und hielt sich auf dieser Höhe bis zu einem p_H der zwischen 7,0 und 6,5 lag. Das Maximum war bei $p_H = 3{,}1$ noch nicht erreicht. — 8) Durch Vorbehandlung mit Salzsäure und darauf folgende Neutralisation der Bakterienaufschwemmung wurde die Katalase der verschiedenen Bakterienarten nicht gleichsinnig beeinflußt; es zeigten sich auch Unterschiede in ihrer Widerstandsfähigkeit gegen höhere Säurekonzentrationen. Aehnliche Verschiedenheiten ließen sich nach Vorbehandlung mit Alkali beobachten. Gegen Jod zeigte sich die Bakterienkatalase sehr empfindlich; in allen Fällen war durch 1stünd. Einwirkung von 0,008 Proz. freien Jods die Katalase vollständig inaktiviert. Schwefelkohlenstoff wirkt auf die Bakterienkatalase stets hemmend, doch ist der Grad der Hemmung bei den verschiedenen Bakterienarten sehr verschieden. Auch das Chloroform bzw. ein Gemisch von Chloroform und Aceton, das, kurz vor Zusatz des Wasserstoffsuperoxyds der Bakterienaufschwemmung hinzugefügt, beschleunigend auf die Sauerstoffentwicklung aus dem Hydroperoxyd wirkte, hemmte bei längerer Einwirkung verschieden stark, immerhin war nach 5tägiger Einwirkungsdauer in den untersuchten Fällen noch aktive Katalase in der Aufschwemmung nachweisbar. Die Resistenz der Bakterienkatalase ist unabhängig von der vitalen Widerstandsfähigkeit der betreffenden Bakterienart gegen die genannten Stoffe. Je nach der Beschaffenheit des hemmenden Agens kann die Katalase sich resistenter erweisen als die Lebenskraft der Bakterien oder umgekehrt. — 9) Die durch Benzidin-Eisessig und Hydroperoxyd nachweisbare Peroxydase ist bei allen Bakteriaceen, mit Ausnahme der Streptokokkaceen, vorhanden. Diese Peroxydase wird durch Erhitzen der Bakterienkulturen bis auf 100° nicht zerstört. Ihre Widerstandsfähigkeit gegen die Kochtemperatur ist verschieden groß, steht aber nicht in Beziehung zur Gramfestigkeit der betreffenden Bakterienspezies. Sie zeigt sich im Gegensatz zur Katalase gegen Neutralsalze, Säure, Lauge, Jod, Schwefelkohlenstoff und Narkotika völlig indifferent. Sie ist in Aether, Essigäther, Chloroform, Benzol, Toluol und Xylol, selbst Alkohol löslich und verbleibt beim Verflüchtigen dieser Stoffe im Rückstand. — 10) Eine Beziehung zwischen Katalase und Peroxydase innerhalb der Bakterienzelle, insbesondere eine Abhängigkeit derselben voneinander, war in keinem Falle festzustellen.

Nachdruck verboten.

Ueber kleine Bazillen und kleinste Kolonien aus Wasser, Bacillus balnearius.

[Aus dem Städt. Hygien. Univ.-Institut in Frankfurt a. M. (Direktor: Geh. Med.-Rat Prof. Dr. M. Neißer).]

Von Dr. med. **Alfons Gersbach,** Assistent des Instituts.

In seiner 1895 erschienenen Arbeit über die Anwendung der mikroskopischen Plattenzählung beschreibt M. Neißer eine Sorte Bakterienkolonien, die ihm damals wegen ihrer Kleinheit auffielen. Diese „kleinen Kolonien" fanden sich auf fast allen mit Leitungswasser, Brunnenwasser und Stuhl beimpften Gelatineplatten. Neißer charakterisierte sie mit folgenden Worten: „Aus dem bloßen mikroskopischen Bild kann man im Zweifel bleiben, ob es sich wirklich um Bakterienkolonien oder etwa um eingeschlossene Luft- oder Flüssigkeitsteile handelt..... Die Kolonien sind noch nach 3 Tagen ganz klein, durchsichtig hell, leicht bläulich, von kreisrunder oder ovaler Gestalt." Bei unseren zahlreichen, aus anderen Gründen ausgeführten Wasseruntersuchungen machte mich Geheimrat Neißer auf seinen früher erhobenen Befund aufmerksam, und es gelang mir, aus vielen Wasserproben jene kleinen Kolonien zu züchten. Wir haben uns eine Zeitlang damit beschäftigt, und ich möchte in folgender kurzen Mitteilung darüber berichten.

Auf den zur Bestimmung der quantitativen Keimzahl in Badewässern beimpften Wasseragarplatten, die mit dem Nährstoff Heyden zubereitet waren, zeigten sich nach 2—3täg. Stehen bei ca. 22° winzig kleine, wie feinste Tautröpfchen aussehende Kolonien, die für das unbewaffnete Auge völlig unsichtbar waren. Mit der 8fach vergrößernden Lupe konnte man sie gerade als Kolonien erkennen. Die beste Beobachtung erfolgte mit dem schwachen Trockensystem des Mikroskops. Ließ man nun diese Platte bei gleicher Temperatur stehen, so konnte man nach weiteren 2—3 Tagen ein langsames Größerwerden der Kolonien beobachten. Es gelang jetzt auch ohne Lupe und Mikroskop, deutlich 2 Typen zu unterscheiden, eine zitronengelbe und eine rosarote. Die Züchtung war nur auf dem Heydenschen Wasseragar möglich. Auf den sonst üblichen Nährböden und auch auf modifizierten Wassernährböden gelang der Nachweis nicht. Man konnte auch ohne besondere Schwierigkeiten mit Hilfe des M. Neißerschen Abstechapparates die kleinen Kolonien isolieren. Eine Fortzüchtung gelang aber nur, wenn man sie wieder auf denselben Nährboden brachte.

Anders war es dagegen, wenn man von der Kolonie des „2. Wachstumsstadiums" ausging. Von den größer gewordenen und Farbstoff produzierenden älteren Kolonien war jetzt eine Uebertragung auf andere Nährböden, z. B. auf gewöhnlichen oder Serumagar, möglich.

Das Wachstum erfolgte aber auch hierbei stets nur bei 22° C und ging langsam vor sich.

Bei dieser Uebertragungsart beobachteten wir nun eine neue Variation, indem jetzt die Kolonien gewissermaßen in ein 3. Wachstumsstadium übergingen, auf festen Medien saftig und üppig wuchsen und so intensiv Farbstoff bildeten, daß der ganze Nährboden damit imbibiert war und rosarot bzw. zitronengelb verfärbt wurde.

Interessant war vor allem das Studium der den verschiedenen Kolonientypen entsprechenden Bakterien. Wenn man die kleinen, primären Kolonien untersuchte, fand man ganz kleine, aber nicht filtrierbare Bazillen von fast kokkenförmiger Struktur. Sie waren gramnegativ und unbeweglich. Mit dem Wachsen der Kolonie wurden sie ebenfalls größer. Im mikroskopischen Bild sahen wir jetzt ein ziemlich großes Stäbchen, das etwa an Coli-Bazillen erinnerte. Im „3. Wachstumsstadium" nahm das Bakterium aber besonders große Formen an. Die alte Bakteriengestalt war überhaupt nicht mehr zu erkennen. Aus dem winzig kleinen, kokkenartigen Gebilde waren lange, plumpe und zum Teil spiralig gewundene Fäden geworden. In diesem Stadium gelang es nun auch leicht, das kulturelle Verhalten der beiden Bakterien auf den andern üblichen Nährböden zu prüfen. Beide Bakterien verhielten sich bis auf eine geringe Abweichung gleich. Sie wuchsen auf gewöhnlichem Agar üppig, besonders saftig aber auf Taubenblutagar und Loeffler-Serum, ohne letzteres zu verflüssigen: hier war auch die Farbstoffbildung besonders intensiv. In gewöhnlicher Peptonbouillon wuchsen sie schlecht, gut dagegen in unserer peptonfreien Trypsinbouillon; Indol bildeten sie nicht. Traubenzucker und Milchzucker, Maltose, Saccharose und Mannit wurden nicht vergoren. In hohen Agarschichten wuchsen sie aërob wie anaërob. Der einzige Unterschied zeigte sich in der Lackmusmolke. Hier rief der gelbe Typ Rötung unter Häutchenbildung hervor, der rote Typ violette Verfärbung und Trübung. Gelatine verflüssigten sie nicht.

Wenn wir nun von den üppigen Kulturen des 3. Wachstumsstadiums ausgingen und in steriles Wasser impften, beobachteten wir nach mehrtägigem Stehenlassen bei 22° schwache Trübung, und im gefärbten Präparat sowie im hängenden Tropfen konnte man wieder die ganz kurzen Stäbchen nachweisen. Aus diesem Wasser konnten wir, von neuem beginnend, nach Belieben auf die geschilderte Weise die großen und größeren Formen züchten.

Die Züchtung der kleinen Kolonien aus Wasserproben des hiesigen Schwimmbades gelang fast stets. Aber auch in Proben des eigenen Badewassers konnten wir wiederholt die eine der kleinen Kolonien, die gelben Farbstoff produzierende, finden. Bei der Frage nach der Herkunft dieser Bakterienkolonien lag es natürlich nahe, an den menschlichen Körper zu denken. In dieser Richtung ausgeführte Stuhluntersuchungen fielen im Gegensatz zu M. Neißer negativ aus. Dagegen fanden wir den gelben Typus in Abstrichen der verschiedensten Stellen des menschlichen Körpers, wie Achselhöhle, Dammgegend, Kniekehle und Zehenzwischenräume.

Uns war aufgefallen, daß ein Weiterzüchten der großen Formen in gewöhnlicher Peptonbouillon schlecht gelang; weiter hatten wir gesehen, daß ein Fortzüchten der kleinen Kolonien auf peptonhaltigen Nährböden überhaupt nicht möglich war. Das Pepton schien also hier eine andere Rolle zu spielen, wie es bei den meisten übrigen Bakterien

der Fall ist. Es scheint hier das Wachstum der Bakterien nicht zu fördern, sondern zu hemmen. Wir versuchten daher die Züchtung auf Nährböden mit geringerem Peptongehalt. Unser gewöhnlicher Nähragar wird mit einer 1proz. Peptonlösung hergestellt. Wir stellten uns nun Nährböden her, die $^1/_2$, $^1/_3$ und $^1/_{20}$ der üblichen Peptonlösung enthielten, und fanden, daß jetzt eine Uebertragung der kleinen Kolonien auch auf die weniger Pepton enthaltenden Nährböden gut gelang. Weiter fanden wir, daß der Gehalt des Nährbodens an Kochsalz für das Weiterzüchten unserer Bakterien von Bedeutung ist. In Nährböden, die sich, was ihren Salzgehalt angeht, dem Wasseragar Heyden beträchtlich nähern, z. B. in 0,1 Proz. Kochsalz enthaltendem Nähragar, gelang ein Weiterzüchten sehr gut.

Versuche, diese Eigenschaften des Bakteriums zu einer Anreicherung zu benutzen, gingen von dem Gedanken aus, daß andere häufig in der Natur vorkommende Bakterien in pepton- und salzarmen Medien nicht mehr gedeihen. Wir impften daher die Bakterien in gewöhnliche Bouillon und in mit Aq. dest. hergestellte Bouillonverdünnungen. In gleicher Weise machten wir die Einsaat mit Coli-Bazillen und Staphylokokken. Das Ergebnis war aber dies, daß die letzteren beiden Bakterientypen sich weit besser und schneller auch in pepton- und salzarmer Nährbouillon vermehren konnten als die kleinen Bakterien. Auch andere Anreicherungsversuche der kleinen Bakterien durch Chlorzusatz zum Nährboden gelangen nicht. Das häufige Vorkommen der Bakterien im chlorierten Wasser unseres Schwimmbades hatte den Gedanken nahe gelegt, daß es vielleicht besonders widerstandsfähig diesem Desinfizienz gegenüber sei. Es zeigte sich aber, daß gewöhnliche sowie mit Aq. dest. verdünnte Bouillon mit einem Chlorgehalt von 0,05 Proz. das Wachstum unserer Bakterien schon hemmt, während Coli-Bazillen und Staphylokokken darin noch gedeihen.

Virulenzprüfungen an der Maus ergaben kein brauchbares Resultat, sowohl die kleine wie die große Bakterienform erwies sich, in großen Dosen subkutan injiziert, als apathogen.

Die beschriebenen Bakterienarten haben nach 2 Richtungen hin ein großes Interesse. Einmal sind sie wieder einmal eine Stütze für die alte Mahnung, bei Zählung von Wasserplatten, Mischplatten usw. vorsichtig zu sein. Dann aber ist es nicht ohne Interesse, daß diese Bakterien aus Wasser nicht auf Peptonnährböden anwachsen, auf denen sie aber nach Gewöhnung üppig gedeihen, daß sie als Kolonie und Individuum ganz klein und ganz groß sein können, und daß wir es in der Hand haben, diese verschiedenen Formen künstlich hervorzurufen.

Wir schlagen für die bisher noch nicht eingehend beschriebenen Bakterienformen mit Rücksicht auf ihr häufiges, wohl regelmäßiges Vorkommen im Wasser von Schwimmbädern den Namen Bac. balnearius flavus bzw. ruber vor.

Nachdruck verboten.

Versuche zur Unterscheidung der Bakterien aus der Typhus-Coli-Gruppe durch Färbung.

Von ao. Prof. Dr. **J. Kabelík**
und Dr. **Walter Rosenzweig,**
Sek.-Arzt d. Prosektur des Landeskrankenhauses in Olmütz.

Bessonoff publizierte in den „Arbeit. a. d. Inst. f. exper. Ther. u. d. Georg Speyer-Hause zu Frankfurt a. M. 1919. S. 59" eine Arbeit, in welcher es ihm gelang, die Stämme Paratyphus B und Coli vermittels komplizierter Färbemethoden zu differenzieren. Die Form der Bakterien litt darunter sehr. Diese Methode ist zwar theoretisch recht interessant, doch praktisch wohl kaum zu verwerten, und es gelang auch nicht, sie zur Differentialfärbung der anderen Bakterien zu verwenden.

Wir versuchten, mit anderen Methoden zum Ziele zu gelangen, und zwar mit Hilfe der Färbung nach Gram, wobei wir verschiedenartige Entfärbungsmittel in Anwendung brachten. Wir schlugen hierbei denselben Weg wie Kißkalt[1]) und Schmitt[2]) ein, nur mit dem Unterschiede, daß wir nur Mikroben der Gruppe Typhus-Coli-Dysenterie untersuchten.

Nur Proteus X19 (Varietät O) wurde zu den Versuchen herangezogen, und außerdem des Interesses halber visköse Kulturen eines lysogenen sowie lysoresistenten Coli-Bazillus (Immun-Coli), in der Annahme, es könnte bei irgendeiner Methode ein gefärbtes Teilchen des Bakteriophagen entdeckt werden.

Gefärbt wurde allerdings mit Anwendung stärkerer Färbemethoden, da es sich um leicht entfärbbare Mikroben handelt. Es wurde nur frisch bereitete Anilin-Gentianalösung verwendet; gefärbt wurde 5 Min. (anstatt 1—3 Min.), gebeizt mit starker Lugolscher Lösung (1:2:100, statt 1:2:300), dann wurde getrocknet. Durch das Trocknen fixiert man den Farbstoff stärker, so daß er viel schwerer entfärbt wird. Das Trocknen war schon deshalb notwendig, weil zur Entfärbung auch solche Mittel verwendet wurden, die sich mit Wasser nicht mengen.

Die Kontrastfärbung wurde bei unseren Versuchen mit Eosin durchgeführt, so daß nirgends auch nur Spuren von Gentiana überdeckt wurden.

Auf einem Objektträger wurden stets alle 6 Ausstriche gemacht, und zwar aus dichten Suspensionen der genannten Mikroben in gewöhnlichem sterilisierten Wasser; getrocknet wurde an der Luft, fixiert in der Flamme, und hierauf gleichzeitig alle demselben Verfahren unterworfen. Zur Färbung wurden stets frische, 24 Std. alte Kulturen

1) Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Bd. 70. S. 281
2) Compt. rend. Soc. de Biol. T. 83. 1920. p. 627.

von Drigalski-Agar verwendet. Färben und Beizen bei gleichzeitiger Erwärmung wurde, obwohl dies die Färbung auch sehr verstärkt, nicht in Anwendung gebracht, weil es hierbei unmöglich ist, alle Bedingungen gleichmäßig einzuhalten. Hierauf wurde mit verschiedenen Mitteln mit folgendem Resultat entfärbt:

Vollkommen entfärbten (= θ Resistenz) alle genannten Mikroben schon innerhalb 1 Min. folgende Stoffe: Methylalkohol, Azeton, Eisessig. Bact. coli zeigt teilweise nach 1 Min. bei Entfärbung mit Aethylalkohol schwache Reste von blauem Farbstoff, bei Entfärbung mit konzentrierter Karbolsäure nach 2 Min. auch noch Farbreste. Andere Mikroben werden durch letztere Mittel früher entfärbt (Tab. I).

Tabelle I.

	Nelkenöl	Oleum origani	Glyzerin	Anilin	Formalin	konz. wässerige Lösung von $HgCl_2$	konz. NH_3	ca. 2-proz. KOH	10-proz. Na_2CO_3	kochendes Wasser	[1]) Konz. Säuren: je 5 Tropfen auf 10 ccm H_2O		
											HCl	H_2SO_4	HNO_3
Ty	+++, andere ++ bis θ	+++	±	+	+++	+++	++	++	++	++	++	+++	+++
B	dgl.	+++	+	++	++	+++	++	++	++	++	++	+++	+++
SK	+++	+++	θ	±	+++	+++	++	++	+++	++	++	+++	+++
O 19	θ	+	θ	θ	+	++	+	Alles entfärbt bis auf Gram + Granula im Leibe der Mikroben	++	+	++	±	++
Coli	wie Ty, die Hälfte ungefähr θ	+++	++	++	+++	+++	++	++	+++	++	++	++	++
I.-Coli	+++	+++, das Ektoplasmadoch entfärbt	++	++	+++	+++	+++	++	+++	+	+++	+++	+++

Erläuterung: +++ = vollkommene Resistenz, keine Entfärbung; θ = keine Resistenz, vollkommene Entfärbung; Ty = Typhus; B = Paratyphus B; SK = Bac. dysenteriae Shiga-Kruse; O 19 = Proteus X 19 (Varietät 0); I.-Coli Immuncoli.

Die Entfärbung ist nicht überall die gleiche. Manchmal geht die Färbung der Bakterien einfach aus dem Blauschwarzen ins Veilchenblaue bis Rosa und Rot über, ein andermal behalten vereinzelte Bakterien vollkommen die Gentianafärbung, während andere sie vollkommen verlieren. Dies war besonders ins Auge fallend bei Entfärbung mit Nelkenöl bei den Stämmen Typhus, Paratyphus B und B. coli und wurde dort auch besonders vermerkt.

Diese Tatsache konstatierten wir auch bei Entfärbung mit Propyl- und Amylalkohol, wenn die Präparate feucht, nicht getrocknet entfärbt wurden. Sehr ungleichmäßig entfärbte auch Chloroform, an einzelnen Stellen des Ausstriches waren die Mikroben vollkommen ent-

1) Schmitt fand, daß 5-proz. Essigsäure den Dysenteriebazillus Flexner sehr langsam, den Bac. chlororapis und B. lemonieri erst nach 24 Std. entfärbt. 10-proz. HCl entfärbt Gram + Mikroben sehr rasch, nur Bac. mesentericus widersteht besonders lange.

färbt, an anderen überhaupt nicht. Die Ursache davon war höchstwahrscheinlich die nicht vollkommene Entfettung des Objektträgers. Es wurde hier überall je 2 Min. entfärbt. Ueberhaupt nicht entfärbten das Gentianaviolett selbst bei 5 Min. und auch noch länger währender Entfärbung (Resistenz = +++) folgende Mittel: Wasser, 60proz. Alkohol (sowie in noch schwächerer Konzentration), Benzin, Xylol und Aether. Andere Entfärbungsmittel wurden in Tabelle I angeführt. Der Einfluß des verdünnten Aethylalkohols wird dargestellt in Tab. II.

Tabelle II.

	100 Proz.	90 Proz.	80 Proz.	70 Proz.	60° und schwächer
Ty	θ	±	++	+++	Nirgenda Entfärbung
B	θ	±	++	+++	
SK	θ	+	größtenteils ++, vereinzelte komplett θ	+++	
O 19	θ	±	±, nur ganz vereinzelte ++	++	
Coli	θ	+	+++	+++	
I.-Coli	θ	+	+++	+++	
Staphylokokken	+++	+++	+++	+++	

Entfärbt wurde immer zu je 3 Minuten, alles übrige so wie oben.

90proz. Alkohol hinterläßt auf dem Präparate große Mengen blauer Gerinnsel. Absoluter Alkohol entfärbt hier am besten, obgleich anderswo 80proz. energischer wirkt. Nach Schmitt entfärbt 80proz. Alkohol die Gruppe Bac. mesentericus-subtilis schneller als Acetonalkohol, der bei der Methode nach Gram das am energischsten wirkende Entfärbungsmittel ist. Bei der Gruppe Typhus-Coli, ferner bei Bac. pyocyaneus und Vibrio cholerae ist das Gegenteil der Fall, was auch unsere Tabelle bestätigt.

Aus der Arbeit von Kißkalt ersieht man, daß die Alkaloide in folgender Reihenfolge entfärben: Methylalkohol > Aethyl- > Propyl- > Amylalkohol. Da die beiden letzteren schwächer als Aethylalkohol entfärben, versuchten wir auch mit ihnen zu entfärben. Nach Schmitt entfärbt Amylalkohol sehr rasch Vibrio cholerae, hingegen nur sehr langsam Bac. dysenteriae-Shiga-Kruse. Unsere Versuche hatten folgendes Ergebnis (Tabelle III):

Tabelle III.

	Propylalkohol			Amylalkohol		
	Nach 1 Min.	Nach 1 Min. 30 Sek.	Nach 2 Min.	Nach 1 Min.	Nach 1 Min. 30 Sk.	Nach 2 Min.
Ty	θ	θ	θ	++	++	+
B	θ (±)	θ	θ	++	++	++
SK	+++	+ einzelne +++	θ	+++	+++	+++
O 19	+	θ	θ	+++	++	+
Coli	+++	++	θ	+++	+++	++
I.-Coli	+++	+	θ	+++	+++	+++

Weiterhin brachten wir Gemische von Aethyl-Propyl- und Amylalkohol zur Entfärbung in Anwendung; gefärbt wurde, wie oben, nach

Gram, und zwar ebenfalls mit verstärkten Färbemethoden, worauf die getrockneten Präparate je 2 Min. mit folgenden Mischungen entfärbt wurden (Tabelle IV):

Tabelle IV.

Aethylalkohol Propylalkohol Amylalkohol	4 0 0	3 1 0	2 2 0	1 3 0	0 4 0	0 3 1	0 2 2	0 1 3	0 0 4	1 0 3	2 0 2	3 0 1
Ty	0	0	0	0	0	0	Das Ektoplasma überall deutlich +, im Plasma stellenweise Gram + Granula	+[1]	++	+	0	0
A	0	0	0	0	0	0		+	+	+	0	0
B	0	0	0	0	0	0		+	++	±	0	0
SK	0	Größtenteils alles 0, das Ektoplasma hier und da + bis ++						+	+++	+	0	0
Flexner	0	0	0	dgl.	dgl.	dgl.		+	+++	+	0	0
Y	0	0	0	0	0	0		+	+	0	0	0
Coli	0	0	0	0	wie SK			+	+	+	0	0
O 19	0	0	0	0	0	0	0	0	+	+	0	0
Staphylokokken	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	++

Aus alledem ersieht man, daß gewisse Unterschiede selbst zwischen sehr nahe verwandten Mikroben vorhanden sind. Aber diese Unterschiede sind sehr gering und sehr schwankend. Selbst der gleiche Stamm äußert je nach den Umständen das eine Mal eine größere, das andere Mal eine geringere Resistenz gegen die Entfärbung.

Eine praktische Bedeutung wird diese durch die verschiedenartige Entfärbung nachgewiesene Differenzierung genannter Mikroben wohl kaum erlangen. Ein so grundsätzlicher Unterschied wie zwischen den grampositiven und gramnegativen Mikroben läßt sich bei der Typhus-Coli-Gruppe bei Verwendung schwacher Entfärbungsmittel nicht feststellen.

Von den von uns geprüften Mikroben verhielt sich Proteus X19 am differenziertesten; auch darin äußert sich also seine Gruppenverschiedenheit. Aus der eigentlichen Typhus-Coli-Dysenteriegruppe ist der Bac. dysenteriae Shiga-Kruse färberisch am differenziertesten.

Es ist möglich, daß auch durch andere Verfahren noch auffallendere Unterschiede gefunden werden könnten; man könnte beispielsweise verschiedenartiges Vorbeizen anwenden.

Doch wäre dies alles nur Sache tastender Untersuchungen; auf spekulativem Wege läßt sich da wohl kaum etwas erreichen. Wir versuchten auch, die Mikroben mit einem direkt auf dem Präparate erzeugten Farbstoff, nämlich mit Anilinschwarz, zu färben. Das fixierte Präparat wurde mit Anilinwasser übergossen, alsdann Chromsäure ($K_2Cr_2O_7 + H_2SO_4$) hinzugefügt. Es bildet sich langsam ein schwarzer Farbstoff, der die Mikroben schwach färbt. Aber auch hierbei wurden in der Typhus-Coli-Gruppe keinerlei Unterschiede gefunden, weder

1) Im ganzen und großen dasselbe Bild bei allen Mikroben wie in der vorhergehenden Rubrik, nur sind die Gram + Granula noch reichlicher vorhanden. Das Ablesen ist hier wegen der reichlichen Gerinnsel im Präparate sehr subjektiv und zwar finden sich um so mehr Gerinnsel vor, je weniger Aethylalkohol das zur Entfärbung verwendete Gemisch enthält.

bei Anwendung von fertigem Farbstoff, noch bei Anwendung von auf dem Präparat frisch erzeugtem Farbstoffe (in statu nascendi). Von dem Ideal „Färbung = mikrochemische Reaktion" sind wir noch weit entfernt. Am ehesten wäre es vielleicht möglich, einige fermentative Besonderheiten der Mikroben färberisch klarzulegen. Vorläufig erwarten wir einen größeren Erfolg von Färbungsmethoden im Sinne mikrophysikalischer Reaktionen. Hier könnte man vielleicht folgendermaßen einen Erfolg erringen: Färbung bei verschiedener Wasserstoffionenkonzentration; man könnte auch verschiedene Farbstoffe mit geeigneten elektrischen Ladungen für solche Mikroben wählen, welche eine verschiedenartige Säureagglutination aufweisen.

Besonders verlockend wäre der Versuch, den physikalischen Zustand der Bakterien durch spez. Immunsera so zu verändern, daß sie dann eine anderweitige spez. Färbung aufweisen.

Nachdruck verboten.

Die Epidemiologie der gegenwärtigen Cholera in Russland.

[Aus dem Mikrobiologischen Institut zu Moskau.]

Von Prof. **W. Barikin** und Dr. **A. Zacharoff.**

Die Choleraepidemien der letzten Jahre in Rußland boten eine Reihe von Eigentümlichkeiten, die schon die Aufmerksamkeit des 6. Allrussischen Kongresses der Epidemiologen und Bakteriologen auf sich lenkten und Gegenstand spezieller Vorträge (Lewitzki) und Arbeiten (Minervin, Ichtuzeff u. a.) waren. Die Cholera hat in der Tat in Rußland den Charakter ihres klassischen Verlaufs verändert. Die Grenzen zwischen der kontagiösen und der Wasserepidemie verwischen sich, hier und dort werden Erkrankungen an der Cholera im Laufe des ganzen Jahres beobachtet, die den Charakter endemischer Erkrankungen annehmen. An einigen Orten (Rostow a. Don) schließen sich den für die Cholera typischen sommer- und herbstlichen Maxima deutliche Exazerbationen im Frühling an. Außerdem wurde in einer Reihe von Städten (Rostow, Kiew, Poltawa, Woroschuan) ein Auftreten der Cholera im Winter beobachtet, deren Entstehung oft unerklärlich blieb, die ganz unerwartet entstand und schnell wieder verschwand. Unverständlich an diesem Aufflackern der Cholera schien der Umstand, daß sie zuweilen in Hospitälern ausbrach, in denen sich Kranke mit Flecktyphus und besonders mit Recurrens befanden (Baku, Rostow).

Die Geschichte dieser intrahospital ausbrechenden epidemiologisch ungeklärten Choleraerkrankungen ist recht stereotyp. Per Eisenbahn traf eine Partie Flecktyphus- oder Recurrenskranker aus einer cholerafreien Gegend ein. Die Kranken wurden in Hospitäler verteilt und befanden sich schon nach 2—3 Wochen in der Rekonvaleszenz. Plötzlich tritt bei irgendeinem der Rekonvaleszenten, die während des Typhus einige Unregelmäßigkeiten von seiten des Darms aufwiesen, ein typischer Choleraanfall auf, dessen Diagnose bakteriologisch bestätigt wird. Die sorgfältigsten Nachforschungen nach den Quellen dieser intrahospital ausgebrochenen Ansteckung blieben in diesem 1. Fall von Cholera völlig erfolglos. Weder im Hospital noch unter dem Per-

sonal, wie auch in der Stadt gibt es und gab es überhaupt Cholerafälle, oder wenigstens nicht in den letzten Monaten.

Die angeführten Tatsachen veranlaßten natürlich zu bakteriologischen und epidemiologischen Beobachtungen und Untersuchungen zwecks Beleuchtung des neuen, für Entstehung, Entwicklung, Verlauf und Verschwinden der einzelnen Choleraherde charakteristischen Züge. Einer von uns (Barikin) war in den Jahren 1916—1920 Zeuge und Teilnehmer des gegen die Choleraepidemien im Süden Rußlands, besonders in Rostow a. Don, geführten Kampfes. Im Herbst 1922 hatten wir beide dann Gelegenheit, ausführlich ein isoliertes Aufflackern der Cholera im äußersten Norden des europäischen Rußland, und zwar in Archangelsk, zu beobachten. Endlich verfügen wir in der uns hier interessierenden Frage über offizielle Daten des Kommissariats für Volksgesundheit, wie auch über die laufende medizinische Literatur.

Auf Grund des angeführten Materials wollen wir den Versuch machen, die Eigentümlichkeiten der gegenwärtigen Cholera in Rußland zu erklären. Die Erklärung dürfte in folgenden Tatsachen zu suchen sein:

1) In den Eigenschaften des Choleravibrios selbst, 2) im Verhalten der Bevölkerung zu ihm, und 3) in der besonderen Lebensart der russischen Bevölkerung während der letzten Jahre.

Die Kenntnis dieser 3 Momente, die einer jeden Epidemie zugrunde liegen, wird uns die Eigentümlichkeiten der gegenwärtigen Cholera verstehen lassen.

Der Urheber unserer Cholera, der Choleravibrio, ist wenig virulent. Statt der gewöhnlichen $1^1/_2$—$^1/_2$ Oese einer 24stünd. Choleraagarkultur, die bei intraperitonealer Einführung ein Meerschweinchen von 250,0—300,0 tötet, sind 2—3 Oesen oder sogar $^1/_2$ oder ganze Kultur eines Choleravibrios erforderlich, um ein Meerschweinchen zu töten. Diesen Kulturen geht fast jede Virulenz für Meerschweinchen ab, und mit ihnen gelingt auch das Pfeiffersche Experiment in vivo nicht. Man wird einwenden, daß die Frage, ob aus der Virulenz des Choleravibrios für Meerschweinchen auf seine Virulenz für Menschen geschlossen werden kann, noch strittig sei. Peras, Moldowan u. a. sind geneigt, einen Zusammenhang zwischen der Virulenz des Choleravibrios für Menschen und Meerschweinchen anzunehmen, während Kryschanowsky, Glusmann u. a. an diesem Zusammenhange zweifeln oder ihn bestreiten. Jedenfalls steht die Tatsache einer starken Abnahme der Virulenz der während der Epidemien der letzten Jahre in Rußland erhaltenen Cholerakulturen für Meerschweinchen fest.

Eine zweite beachtenswerte Tatsache ist das oft Untypische, die leichte Veränderlichkeit der frisch aus dem menschlichen Darm gezüchteten Cholerakulturen. Der zeitweilige Verlust der Fähigkeit solcher Kulturen, durch spezifische Sera agglutiniert zu werden, das Auftauchen typischer Kolonien auf Plattenkulturen gleichzeitig mit aus unbeweglichen Vibrionen bestehenden, deren Bewegung erst nach 2—3 Ueberimpfungen sich wieder einstellt, alle diese vergänglichen Merkmale, die von Frießen u. a. beobachtet wurden, sind für die Cholerakulturen unserer Zeit äußerst charakteristisch. Ausgehend von der leichten Veränderlichkeit dieser Kulturen, erhielt Minervin in unserem Institut experimentell aus einer typischen Cholerakultur eine

bewegliche Varietät, die die Fähigkeit, in Immunitätsreaktionen mit Anticholerasera zu treten, verloren hatte, d. h. eine Kultur, die nach unseren alten Vorstellungen eine Kultur eines choleraähnlichen Vibrios genannt werden sollte.

Andererseits verschluckte Dr. Erwoljewa aus Rostow a. Don eine choleraähnliche Kultur, die durch Anticholeraserum nicht agglutinierte, und rief dadurch bei sich einen Anfall von akuter Enteritis hervor; aus ihren Exkrementen, die bis zu diesem Experiment von Choleravibrionen frei waren, wurde eine Kultur gezüchtet, die von einem Anticholeraserum bis zu einem Titer von 1:6000 agglutiniert wurde. Dr. Erwoljewa verwandelte also in ihrem Darme eine choleraähnliche in eine echte Cholerakultur. Und endlich ist als dritte charakteristische Eigentümlichkeit der Cholerakulturen in letzter Zeit außer der schwachen Virulenz und leichten Veränderlichkeit ihre weite Verbreitung als unschuldiger Darmbewohner und ihre deutlich ausgesprochene Neigung zur Saprophytose zu nennen. Während der Choleraepidemie von 1908—1909 in Petersburg wurden von 4515 Untersuchten Choleravibrionen in 6,1 Proz. bei Personen mit geformtem, in 5,8 Proz. mit breiförmigem und in 14,4 Proz. mit flüssigem Stuhl gefunden (Sabolotny, Kulescha, Jakowlew).

Während der letzten Choleraepidemien im Süden Rußlands fand Saweljew Choleravibrionen bei 5 Proz. sämtlicher militärischen Eisenbahneschelone — eine kolossale, aber verständliche Zahl, wenn wir berücksichtigen, daß der Choleravibrio genügend Zeit hatte, sich dem Darm der russischen Bevölkerung anzupassen. Seit 1823—1923, also im Laufe eines Jahrhunderts, waren 50 Jahre mit Choleraepidemien. Seit 1901—1923, also im Laufe der letzten 22 Jahre, blieben nur 3 ohne Cholera (1901, 1903 und 1906). In den übrigen 19 Jahren herrschte in Rußland die Cholera.

Wenn man in Betracht zieht, daß zwischen Cholera und einigen choleraähnlichen Vibrionen eine zweifellose Verwandtschaft besteht, und daß die Grenzen zwischen ihnen sich oft verwischen, so muß das zuerst von Woronin im Laboratorium von Prof. Sawtschenko festgestellte Vorhandensein von Vibrionen im Darme von Fischen und Krebsen in chronisch von Cholera verseuchten Gegenden, wie z. B. im Süden Rußlands in Krasnodar (Woronin), in Rostow a. Don (Erwoljewa) als eine Erscheinung von größter epidemiologischer Bedeutung angesehen werden.

Betrachten wir jetzt den zweiten Faktor, der außer dem Vibrio für die Entwicklung der Choleraepidemie von Bedeutung ist. Wie ist das Verhältnis der russischen Bevölkerung zum die Cholera hervorrufenden Mikroben? Die Bevölkerung gewöhnt sich ebenso allmählich an den Mikroben, wie letzterer an die Bevölkerung. Dank dieser Gewöhnung entwickelt sich in der Bevölkerung langsam, aber unaufhaltsam eine Immunität ihm gegenüber. Der Mechanismus der Entstehung dieser Immunität wird in der Arbeit von Minervin, die die Choleraepidemie in Rostow a. Don 1920 betrifft, sehr gut aufgedeckt. Minervin stellte die Sterblichkeit nach Monaten zusammen und erhielt folgende Zahlen:

März	72 Proz.	August	40 Proz.
April	59,5 „	September	35 „
Mai	54 „	Oktober	15 „
Juni	44 „	Im November keine Cholerafälle	
Juli	41,5 „		

Während derselben Zeit war die Zahl der gesunden Träger von Choleravibrionen folgende:

Juni	6,5 Proz.	September	30,7 Proz.
Juli	7,6 „	Oktober	72 „
August	12 „		

Diese Zahlen zeigen, daß, je weniger gefährlich die Cholera, entsprechend dem Ersterben der Epidemie ist, desto größer die Zahl der gesunden Träger der Choleravibrionen wird. Das Vorhandensein von Cholerabazillen ist nach unseren heutigen Auffassungen nichts anderes als das Resultat einer Cholerainfektion, die ohne klinische Symptome verläuft. Nach den Untersuchungen von Dr. Glusmann aus dem Laboratorium von Prof. Korschun finden sich im Serum gesunder Choleraträger Antikörper ebenso beständig wie bei Vakzinierten und Cholerarekonvaleszenten. Die große Verbreitung einer erworbenen Immunität gegen die Cholera unter der Bevölkerung Rußlands wird in der Tat durch Beobachtungen im Laboratorium bestätigt. So fanden Mironow und Beljawzew aus dem Laboratorium von Prof. Sawschenko bei Untersuchung des Serums von 1247 Einwohnern Krasnodars in 814 Fällen die Reaktion von Pfeiffer (Methode von Bordet in vitro) positiv. Aus diesen Beobachtungen folgt, daß $^2/_3$ der Bevölkerung von Krasnodar erworbene Immunität gegen Cholera besitzen. Wenn also in der Tat diesoe Form von Immunität in Rußland weit verbreitet ist, so darf es weiter nicht wunder nehmen, daß die bakteriologische Untersuchung der Cholera sogar bei immer größerer Vervollkommnung der Methodik oft große Schwierigkeit macht und oft auch in erfahrenen Händen in 25—30 und mehr Prozent negative Resultate dort ergibt, wo es sich um ein typisches klinisches oder pathologisch-anatomisches Symptom der Cholera handelt. Eine Reihe von erfahrenen, hervorragenden Untersuchern (Friese u. a.) führen Fälle an, wo mikroskopisch im Stuhle deutlich Choleravibrionen gefunden werden, auf Nährboden jedoch Kulturen von ihnen nur nach wiederholten Anreicherungen und vielmaligem Ueberimpfen erzeugt werden können.

Zwischen den Vibrionen im Stuhl von Kranken, die ihre typische Form erhalten haben, findet man viele ringförmige und deutlich degenerative Formen (Kritsch). Unter den Kolonien der 1. Generation trifft man, wie wir schon erwähnten, solche, die aus Vibrionen bestehen, welche ihre Beweglichkeit und die Eigenschaft, durch Anticholeraserum agglutiniert zu werden, eingebüßt haben.

Alle diese Tatsachen sprechen unserer Meinung nach dafür, daß der Organismus mit ungewöhnlicher Kraft der Infektion zu widerstehen sucht.

Vom Standpunkt einer erworbenen Immunität der Bevölkerung gegen Cholera erklären sich auch leicht das intrahospitale und winterliche Aufflackern der Cholera bei Individuen, die Flecktyphus und besonders Recurrens, die bekanntlich oft durch Enterocolitis kompliziert wird, überstanden haben. Die Cholera ist eine Darminfektion. Immunität gegen sie ist eng mit dem Zustand der Darmwand verbunden. Alles, was ihre Widerstandskraft herabsetzt, oder ihre Unversehrtheit verletzt, macht sogar Tiere, die sonst gegen Cholera unempfänglich sind, wie z. B. erwachsene Kaninchen, schutzlos gegen experimentelle tödliche Infektion mit Cholera.

Mendoza erzeugte schon 1886 tödliche Erkrankung von Affen an Cholera, indem er ihnen anfangs Soda und darauf eine Bouillonkultur von Choleravibrionen gab. Pottevin und Violle erhielten dasselbe Resultat, indem sie Affen vor Einführung einer Cholerakultur in den Magen durch eine Sonde 24 Std. hungern ließen und schwefelsaures Natrium und Soda eingaben. Cantacuzène und Marie riefen typische Cholera bei Meerschweinchen hervor, nachdem sie ihnen vorher in den Darm Podophillin eingeführt hatten. Besredka und Masaki riefen, um erwachsene Kaninchen durch den Mund zu infizieren, eine vorhergehende Sensibilisation ihres Darms durch Ochsengalle hervor, die eine Abschuppung der Schleimhaut zur Folge hat.

Es ist wohl bekannt, daß der Hunger, den die Bevölkerung Rußlands 1921—1922 gelitten hat, und der sie zum Gebrauche der unglaublichsten Ersätze (Baumrinde, Lehm usw.) genötigt hat, einer der besten Mithelfer der Cholera war.

Vom Standpunkte der Immunität des Darms gegen Cholera ist es also verständlich, warum der Flecktyphus und Recurrens, die oft die Unversehrtheit der Darmwand verletzen und allgemeine Schwäche des Organismus hervorrufen, eine latente Choleraform in einen Anfall typischer klinischer Cholera umwandeln können.

Diese Erklärung scheint der allgemein angenommenen Meinung zu widersprechen, daß das Tragen der Cholerabazillen durchschnittlich 1—2 Wochen dauert, das winterliche intrahospitale Aufflackern der Cholera jedoch zuweilen 2—3 Monate nach einer choleraverseuchten herbstlichen Saison auftritt. Dieser Widerspruch ist jedoch nur ein scheinbarer, wenn man sich erinnert, daß eine Reihe von Autoren das Tragen von Choleravibrionen bedeutend später, als nach 1—2 Wochen, beobachteten, so Tomda nach 56 Tagen, Bürgers 69, Grixoni 73, Allan, Vallée und Martino nach 5 Monaten, Huntemüller 198 Tagen und Kulescha nach mehr als 1 Jahr.

Wir müssen nun noch den 3. Faktor erörtern, und zwar die Besonderheiten der Lebensweise der Bevölkerung in den letzten Jahren, die ihrerseits auch die Eigenheiten der Entstehung und des Verlaufs der Choleraepidemien in Rußland bewirken.

Die Bedeutung dieses Faktors kann an einem beliebigen Beispiel erläutert werden. Nehmen wir als Beispiel das isolierte Aufflackern der Cholera in Archangelsk im September 1922 an. Die Epidemie begann daselbst am 2. 9. 1922, erreichte ihr Maximum in der 3. Woche und ging schnell in der 5. zu Ende. Im ganzen erkrankten 69 Personen, es starben 33, d. h. 48 Proz.; die bakteriologische Diagnose wurde in 41 Fällen, d. h. in 60 Proz. gestellt.

Die Ursachen der Epidemie waren unbekannt. Nirgends auf Hunderte von Werst in der Umgebung von Archangelsk waren Cholerafälle zu beobachten.

In Archangelsk wurden die ersten Fälle auf dem Wasser unter den Matrosen, Arbeitern und Angestellten der Dampfer und Ruderfahrzeuge beobachtet. Nach 4 Tagen tauchten Choleraerkrankungen unter den Einwohnern der der Stadt benachbarten Insel Salambola auf, und nach weiteren 5 Tagen unter den Einwohnern der Stadt selbst, der Eisenbahnstation, der nächsten Fabriken und Dörfer.

Charakteristisch für diese Epidemie waren: 1) ihre unbekannte Entstehung, 2) das Fehlen eines kontagiösen Zusammenhanges zwischen

den überall zerstreuten Erkrankungen, 3) das deutliche Vorherrschen der Erkrankung zwischen den am Wasser Beschäftigten und den Einwohnern der Insel Salambola.

Die Annahme einiger lokalen Aerzte, daß die Cholera in Archangelsk mit Früchten aus Taschkent eingeführt sein könne, die zwei Monate nach ihrer Absendung aus Taschkent in Archangelsk ankamen, schien mindestens zweifelhaft. Die bakteriologische Untersuchung von Proben der aus Taschkent eingeführten Früchte ergab denn auch ein negatives Resultat.

Auch die Voraussetzung, daß die Cholera durch Nahrungsprodukte des Marktes sich verbreite, erwies sich nach unseren Untersuchungen auch als unhaltbar. Die verschiedensten Nahrungsmittel, wie Brot, Fleisch, Fisch, Milch und Grünwerk, wurden vom Markt genommen und bakteriologisch untersucht. Sie erwiesen sich alle frei von Choleravibrionen. Hätte die Cholera sich durch die Lebensmittel auf dem Markte verbreiten können, so mußten vor allem doch, wenn nicht die Händler selbst, die alle cholerageimpft waren, so doch wenigstens die Glieder ihrer Familien darunter leiden. Unter den Familien der Markthändler war die Cholera jedoch nicht mehr zu beobachten als unter der übrigen Stadtbevölkerung. Einige epidemiologische Momente, die unbeachtet blieben, lenkten unwillkürlich unsere Aufmerksamkeit auf sich.

Wie schon erwähnt, wurde in den ersten Tagen die Cholera ausschließlich unter den Angestellten der Schiffahrt beobachtet. Die Kranken blieben auf den Dampfern und Ruderfahrzeugen. Ihr Stuhl und ihre Brechmassen kamen direkt in den Fluß. Später wurden viele Cholerakranke aus Salambola und der Schiffahrt in die städtische Cholerabaracke auf Booten ohne jegliche Vorsichtsmaßregeln gebracht und verseuchten auch mit ihren Fäkalien und Brechmassen den Fluß. Letzterer wurde also systematisch mit Cholera infiziert, und es kann daher nicht wundernehmen, daß von 69 an Cholera Erkrankten bei 42 ein deutlicher Zusammenhang der Erkrankung mit dem Gebrauch von rohem Wasser festgestellt werden konnte, wie auch, daß diejenigen Gruppen der Bevölkerung, welche in Beziehung zum Trinkwasser in ungünstigere Bedingungen gestellt waren, wie die Angestellten der Schiffahrt und die Bewohner von Salambola, in viel größerer Anzahl an der Cholera erkrankten.

Endlich zeigte die bakteriologische Untersuchung des Wassers in der Duna von 50 untersuchten Portionen das Vorhandensein von Choleravibrionen, trotzdem das Wasser 11 Tage nach der letzten Choleraerkrankung untersucht wurde.

Es war also klar, daß wir es hier mit einer durch das Wasser hervorgerufenen Epidemie zu tun hatten. Nachdem die Frage über die Verbreitungswege der Cholera in Archangelsk gelöst ist, bleibt noch die Frage über die Gründe der Entstehung der Epidemie zu beleuchten.

Bei Erörterung dieser Frage dachten wir an die Möglichkeit einer Einschleppung der Cholera aus den vom Hunger heimgesuchten Wolgagegenden. Die Untersuchung einzelner zufälliger Flüchtlinge in dieser Beziehung schien uns wenig aussichtsvoll; wir wandten daher unsere Aufmerksamkeit auf die organisiert aus der hungernden Wolgagegend in Archangelsk eintreffenden Gruppen. Besonders interessierten uns die Kinder. Es gelang uns, festzustellen, daß die letzte Gruppe von Kindern in Archangelsk am 15. 7. eingetroffen war.

Sie war aus Buguhna (Gouv. Ufa) ungefähr am 15. 6. abgereist und in Simbirsk und Kasan ergänzt worden. Diese Gruppe bestand aus 1500 Kindern der hungernden Wolgagegend. Auf dem Wege nach Archangelsk verlor sie 139 Kinder an akuten Magendarmerkrankungen, war in Quarantäne auf der Eisenbahnstation bei Archangelsk und wurde darauf in die Kinderheime der Stadt verteilt. Die Kinder überstanden alle Magendarmerkrankungen, erweckten jedoch keinen Verdacht auf Cholera, obwohl in einem Kinderheim eine dasselbe bedienende Wäscherin daran erkrankte. Bei der bakteriologischen Untersuchung der Kinder gerade dieses Heims fanden wir unter ihnen 10 Proz. Träger von Choleravibrionen.

Die Beobachtungen über das Aufflackern der Cholera in Archangelsk geben die Möglichkeit, zwei interessante und wichtige epidemiologische Tatsachen festzustellen:

1) einen langsamen, an den kontagiösen Typ erinnernden Verlauf der Wasserepidemie, und

2) ein langes latentes Tragen der Cholerainfektion bei Kindern, die in Archangelsk aus der hungernden und choleraverseuchten Wolgagegend eingetroffen waren.

Die erste Tatsache erklärt sich leicht vom Standpunkt einer verminderten Virulenz der Choleravibrionen und einer Immunität der Bevölkerung gegen sie.

Die Beobachtungen in Archangelsk berechtigen zu der Annahme, daß auch in anderen Städten, wie z. B. Woronesch und Rostow a. Don, wo Choleravibrionen nicht selten im Wasser gefunden wurden und wo die Epidemiekurve einen kontagiösen Charakter trägt, es sich wahrscheinlich nicht um eine kontagiöse Choleraepidemie handelte, sondern um eine Epidemie, die bei trägem Verlauf sich auch per Wasser verbreitet. Die zweite Tatsache — das Einschleppen der Cholera nach Archangelsk aus der Wolgagegend durch Kinder — verdient sehr ernste Beachtung. Die Klinik der Cholera bei Kindern, die mögliche Dauer des Tragens von Choleravibrionen, war, soweit uns bekannt, nicht Gegenstand irgendwelcher Untersuchungen. Es besteht jedoch aller Grund, anzunehmen, daß der kindliche Organismus sich in Beziehung zur Cholera stark von dem des Erwachsenen unterscheidet, und daß die Cholera bei Kindern einen ganz ungewöhnlichen Verlauf annehmen kann und durch ihren atypischen Verlauf Ursache einer Entstehung einer Epidemie dort sein kann, wo man sie am wenigsten erwartet. Die Zahlen, die sich auf die Verbreitung der Choleraerkrankungen nach dem Alter während des Aufflackerns während der Epidemie in Archangelsk beziehen, sprechen überzeugend für die Eigentümlichkeit der kindlichen Cholera. Unter 69 Kranken fand sich die Cholera bei Kindern unter 15 Jahren 5mal ohne tödlichen Ausgang (0 Proz.), zwischen 15 und 20 Jahren 4mal mit 1 Todesfall (25 Proz.), zwischen 20 und 50 Jahren 52mal mit 27 Todesfällen (52 Proz.), und über 50 Jahre in 7 Fällen, darunter 5 mit tödlichem Ausgang (71 Proz.).

Die Choleraepidemie in Archangelsk lehrt uns, daß die Hungersnot in der Wolgagegend die Cholera auf Hunderte von Werst verbreiten, daß sie ein Aufflackern zu ungewöhnlicher Zeit ergeben, und daß dieses Aufflackern entsprechend den lokalen Bedingungen in Form einer ungewöhnlich langsamen Wasserepidemie verlaufen kann.

Ausschließlich durch die eigentümliche Lebensart der letzten Jahre erklärt sich auch, unserer Meinung nach, die Verstärkung der Cholera im Süden im Frühjahr 1920, wo der getreidereiche Süden das Ziel der Pilgerfahrt aus allen Enden Rußlands wurde und im Frühling besonders groß war.

Nachdruck verboten.

Ueber Natur und Bildung der Diphtheriepolkörnchen.

[Aus dem Hygienischen Institut der Universität Köln (Prof. Reiner Müller).]

Von Privatdozent Dr. **Karl L. Pesch.**

Bei Untersuchungen über die Systematik der diphtheroiden Bakterien (1923) habe ich auch die Bedeutung der Polkörnchen für die Unterscheidung der einzelnen Arten nachgeprüft und dabei festgestellt:

1) Alle Corynebakterien (um den von Lehmann und Neumann geprägten Gattungsnamen zu gebrauchen) können unter gewissen Umständen zur Polkörnchenbildung gebracht werden. Ihre Unterschiede in betreff dieser metachromatischen Gebilde sind nur quantitativ, nicht qualitativ; sogar die sogenannten polkörnchenfreien Hofmann-Wellenhofschen Pseudodiphtheriebakterien (Gruppe II meiner Einteilung) bilden unter gewissen Kulturbedingungen Polkörnchen; umgekehrt können auf bestimmten Nährböden auch die sonst sehr zu Polkörnchenbildung neigenden echten Loefflerschen Diphtheriebakterien (DiB) (Gruppe I meiner Einteilung) nur äußerst geringe Volutinbildung erkennen lassen.

2) An Reinkulturen von Corynebakterien der verschiedenen Arten stellte ich weiterhin fest, daß auch in den als „negativ" zu bezeichnenden Präparaten nach längerem Suchen sich doch stets einige Stäbchen mit deutlicher Polkörnchenbildung fanden, sowie daß auch umgekehrt in den „stark positiven" Neißer-Präparaten immer ein Teil der Bakterien ohne metachromatische Substanz ist, eine Tatsache, die auch für die bakteriologische Diphtheriediagnostik von Bedeutung ist.

Meine nachstehend mitgeteilten Untersuchungen wollen auf drei Fragen Antwort geben:

I. Chemische Natur der Körnchen der diphtheroiden Bakterien? II. Kulturbedingungen, die deren Ausbildung fördern? III. Folgerungen aus I. und II. für die bakteriologische Diphtheriediagnostik.

I. Die ersten Untersuchungen über die chemische Natur der bei vielen Bakterien und Pilzen vorkommenden basophilen Körner machten Arthur Meyer und sein Schüler Grimme. Aus mikrochemischen Reaktionen an Mikroorganismen und aus gleichsinnigen Reagenzglasversuchen schlossen sie, daß derartige, nach dem Spirillum volutans als „Volutin" bezeichnete Körner aus Nukleinsäure-

verbindungen bestehen. Diese Ansicht, die allgemein in die Literatur übernommen worden ist, an DiB auf andere Weise nachzuprüfen, schien mir angebracht. Der Weg konnte verschieden sein: 1) war zu versuchen, DiB auf phosphorfreien Nährböden ohne Polkörnchen zu züchten; 2. konnte ich durch Zusatz von Nukleinsäure oder anderen Phosphorverbindungen zu Nährböden, auf denen DiB nur wenig Neigung zur Polkörnchenbildung zeigen, deren Vermehrung und Verstärkung zu erreichen suchen.

Die Lösung der 1. Aufgabe war erschwert. 1) gelang es mir nicht, Agar ganz P-frei zu machen; der geringe P-Gehalt war weder durch fließendes Wasser, noch mit dünnen Säuren ganz auslaugbar. So vorbehandelter Agar gibt stets noch eine schwache P-Reaktion (mit Magnesia-Mixtur oder molybdänsaurem Ammonium oder Silbernitrat). 2) können ja auf einem ganz P-freien Nährboden Bakterien überhaupt nicht wachsen; denn für den Aufbau aller bekannten Lebewesen ist P ja unbedingt notwendig.

Ich wählte deshalb keine Agar-, sondern flüssige Nährböden, die neben H_2O, Traubenzucker und P-freien Salzen (NaCl, $MgSO_4$, $KaCO_3$, $FeSO_4$ und Ca_2CO_4) noch je eine der folgenden 5 verschiedenen N-Quellen enthielten: Ammoniumlaktat, Ammoniumtartrat, Asparagin, Harnstoff und Witte-Pepton. Die Chemikalien waren chemisch rein (meist von Merck), so daß nur die Peptonnährlösung eine schwache P-Reaktion gab. Von jeder dieser 5 Nährlösungen beimpfte ich 11 Röhrchen mit 2 echten Loefflerschen DiB (Pesch-Gruppe I), 3 Pseudo-DiB-Stämmen (Pesch-Gruppe II), 3 anderen diphtheroiden Bakterien der Gruppe IIIa, 1 Saccharomyces-Stamm aus Backhefe und 2 Soorstämmen (Sproßpilze zeigen ja auch erhebliche Metachromasie). Bei 36° war nach 2 Tagen in den ersten 4 Nährlösungen überhaupt kein Wachstum zu sehen; sie blieben klar; die Peptonnährlösungen aber waren durch Bakterienwachstum getrübt. Die trüben Kulturen zentrifugierte ich und färbte den Bodensatz nach Neißer-Falières. In allen Präparaten zeigten die Bakterien und Sproßpilze keine Polkörnchen oder nur Andeutungen. Es hatte also die geringe P-Menge wohl zur Keimvermehrung, nicht aber zur Körnchenbildung genügt. Geringes Wachstum und schlechte Körnchenbildung sind aber nicht voneinander abhängig, wie ich noch zeigen werde.

Ein zweiter Weg, um die chemische Natur der Di-Körnchen zu ergründen, ist der, daß man zu Nährböden, auf denen die DiB-Körnchen sich schlecht bilden, P- oder Nukleinsäureverbindungen zusetzt, um zu sehen, ob dann bessere Polkörnchen auftreten. Tabelle I meiner früheren Mitteilung zeigt, daß Ascitesagar und der Kleinsche Serumnährboden sich zu diesem Zwecke gut eignen, da alle untersuchten Corynebakterien auf ersterem fast gar keine, auf letzterem auch nur ziemlich geringe metachromatische Substanzen aufwiesen. Ich setzte diesen beiden Nährböden Phosphor zu (Kalziumphosphat 0,1 Proz.) oder Acidum nucleinicum aus Hefe von Merck (0,1 Proz.). Zum Vergleich nahm ich noch 2 Nährböden mit starker Polkörnchenbildung, Blutagar und Levinthal-Agar. In Tabelle I sehen wir in den 3 ersten Vertikalreihen (Ascitesagar mit und ohne Zusätze) keinen erheblichen Unterschied in der Polkörnchenbildung. Daß DiB auf Nährböden mit Asciteszusatz stets nur sehr schlecht Polkörnchen bilden, darauf werde ich noch zu sprechen kommen.

Tabelle I.

Polkörnchenbildung bei Zusatz von Phosphor oder Nukleinsäureverbindungen zum Nährboden.

Stamm	1. Ascitesagar			2. Kleinscher Agar			3. Blutagar	4. Levinthal-Agar
	a) ohne Zusatz	b) mit Phosphor	c) mit Nuklein	a) ohne Zusatz	b) mit Phosphor	c) mit Nuklein		
				I. Gruppe.				
1	±	±	+	++	++	++	+++	+++
2	—	±	±	+	+	+	+++	+++
3	—	±	—	++	+	+++	+++	+++
4	—	+	+	+	+	++	+++	+++
5	+	+	+	+	+	++	+++	+++
6	—	±	+	±	+	++	++	+++
12	+	+	+	±	+	++	+++	++
13	—	—	—	+	+	+	+++	+++
14	—	±	±	±	+	++	+++	+++
19	±	±	±	±	++	++	+++	+++
21	±	±	±	+	++	++	+++	+++
22	—	±	—	++	++	+++	+++	+++
23	—	—	—	—	±	±	++	+++
24	—	±	—	—	+	+	+++	++
25	±	±	±	—	—	±	+++	+++
26	+	±	+	+	+	++	+++	+++
28	—	±	—	+	+	+	+++	+++
29	±	—	—	±	++	+++	+++	+++
30	—	—	—	+	++	++	+++	+++
				II. Gruppe.				
7	—	—	+	—	—	+	+	—
8	—	—	±	—	±	+	—	+
15	—	—	—	—	±	±	++	+
16	—	—	—	—	—	+	—	—
18	—	—	—	—	+	+	+	±
20	—	—	±	—	±	±	+	—
				III. Gruppe.				
9	±	+	+	—	+	+	—	+
10	±	±	±	—	±	+	—	—
11	—	+	+	—	—	±	+	±
17	—	±	+	—	+	+	±	—
27	—	—	—	—	±	—	—	±

Im Gegensatz zu den 3 ersten Versuchsreihen ergab der Kleinsche Nährboden mit Kalziumphosphat eine schon deutliche, mit Nukleinsäure eine zum Teil sogar recht erhebliche Zunahme der Polkörnchen bei fast allen diphtheroiden Stämmen, ohne allerdings den Blut- oder Levinthal-Agar hierin zu erreichen. Besonders fällt auf, daß auch die Vertreter der II. Gruppe, nämlich die als „polkörnchenfrei" bezeichneten Hofmann-Wellenhofschen Pseudo-DiB auf Kleinschem Nährboden mit Nukleinsäure recht deutliche Körnchen aufweisen. Aus diesen Versuchsreihen geht hervor, daß durch Zusatz von P- oder Nukleinsäureverbindungen die Bildung des Volutins verstärkt werden kann, was wiederum dafür spricht, daß diese Gebilde aus Nukleinsäureverbindungen bestehen.

Erst nach Fertigstellung dieses Teils meiner Arbeiten wurde mir (durch die Liebenswürdigkeit der Autorin) die Arbeit M. A. van Herwerdens bekannt. Sie erforschte ebenfalls die Herkunft und Chemie des Volutins, jedoch nicht an DiB, sondern an Hefezellen. Auch sie kommt zu dem Schluß, daß für diese Körnchen organische

oder anorganische P-Verbindungen nötig sind. Sie konnte aus Kulturmassen reichlich volutinhaltiger Zellen mit verdünntem Alkali viel mehr Nukleinsäure ausziehen als aus einer gleich großen Pilzmenge, die auf fast P-freien Nährböden ohne Volutinbildung gewachsen war. Unsere Ergebnisse stimmen also insofern überein, nur zeigen meine Versuche, daß es Stoffe gibt (z. B. Ascites), die auch bei Anwesenheit reichlicher P-Mengen die Körnchenbildung hemmen. Zu erwähnen wäre auch noch die kürzlich erschienene Arbeit Schumachers, der mit Hilfe mikrochemischer Methoden (Methylenblau-Phosphin-Reaktion u. a. m.) den Nachweis führte, daß „Volutin" nicht aus Salzen der Nukleinsäure, sondern aus freier Nukleinsäure besteht.

II. Wir haben vorher gesehen, daß Corynebakterien auf Ascitesnährböden trotz üppigen Wachstums keine oder schlechte Polkörnchen bilden. Ob nun die Ascitesflüssigkeit als solche die Polkörnchenbildung hemmt, prüfte ich, indem ich Blut- und Levinthal-Agarnährböden (mit starker Begünstigung der Volutinbildung) mit gleichen Teilen Ascitesflüssigkeit vermischte und auf diesen Ascites-Blut- und Ascites-Levinthal-Nährböden die Stämme aussäte. Tabelle II zeigt, daß Ascites sämtliche für die Artunterscheidung der verschiedenen Corynebakterien so typischen Eigenschaften dieser Nährböden vernichtet. Ich habe in meiner ersten Veröffentlichung gezeigt, wie gerade Blutagar für die Kennzeichnung der einzelnen Arten (Wachstumsart und -stärke, Stäbchenform, Körnchen) so sehr gute Dienste leistet. Asciteszusatz verändert sowohl die Unterschiede der Bakterienform als auch der Wachstumsart vollkommen, verwischt also die Artunterschiede. Besonders gut sieht man das bei der Körnchenbildung der Stämme meiner I. Gruppe (echte DiB). Während die Polkörnchen auf Blutagar zahlreich und schön, auf Levinthal-Agar meist übermäßig groß werden, sind sie auf den Ascitesmischnährböden nur sehr schwach, bisweilen sogar überhaupt nicht mehr nachzuweisen. Es wird allgemein, auch von van Herwerden, angenommen, daß die Polkörnchen Reservestoffe der Mikroorganismen seien. Dies ist mir aber auf Grund meiner Untersuchungen zweifelhaft geworden. Auf Tabelle II sehen wir die Körnchen auf Ascitesagar bei sehr gutem Wachstum gar nicht oder nur wenig ausgebildet. Schlechte Bildung des Volutins bei guter Vermehrung spricht meines Erachtens gegen dessen Deutung als „Reservestoff". Eher scheint mir (von einer noch zu besprechenden Ausnahme abgesehen) die Polkörnchenbildung im umgekehrten Verhältnis zur Vermehrungsintensität zu stehen, in dem Sinne also, daß derselbe Stamm bei üppigem Wachstum geringe, bei schwächerem Wachstum stärkere Neigung zur Volutinbildung zeigen würde. Als Gründe für diese Ansicht wären anzuführen:

1) Auf Ascitesagar üppiges Wachstum, schlechte Polkörnchenbildung. — 2) Auf Levinthal-Agar wachsen die so sehr zur Körnchenbildung neigenden Stämme der I. Gruppe nur schwach, bilden aber übermäßig starke, oft ganz atypisch dicke Polkörnchen. — 3) Auf Blutagar ist das Wachstum nicht besonders stark, die Polkörnchen werden dagegen recht gut gebildet. — 4) Bei Arbeiten über Mutation bei Diphtheroideen fand ich in 7 Monate alten Bouillonkulturen Mutanten, die sich durch kümmerliches Wachstum bei recht erheblicher Körnchenbildung auszeichneten. — 5) Dale und Trautmann haben eine Reihe aus einer Epidemie isolierter echter Loefflerschen DiB-Stämme beschrieben, die sich alle durch schwaches Wachstum (auf

Tabelle

Wachstum, Bakterienform und Polkörnchenbildung

	I. Blutagar					
	a) ohne Ascites			b) mit Ascites		
	Wachstumsart und Intensität	Bakt.-Form	Polkörnchenbild.	Wachstumsart und Intensität	Bakt.-Form	Polkörnchenbild.
Stämme der I. Gruppe						
Stamm 1, 2, 3, 4, 5, 6, 12, 13, 14, 19, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 28, 29, 30.	mittelstark klar	sehr lang	+++	sehr stark weiß	mittellang	negativ
Stämme der II. Gruppe						
Stamm 7, 8, 15, 16, 18, 20.	stark weißlich	mittellang	±	sehr stark weiß	mittellang	negativ
Stämme der III. Gruppe						
Stamm 9, 10, 11, 17, 27.	sehr stark weiß	kurz	negativ bis ±	sehr stark weiß	kurz	negativ bis ±

Loeffler-Serum) und einer damit Hand in Hand gehenden äußerst starken Polkörnchenbildung von anderen DiB-Stämmen unterschieden. — 6) Man kann durch Verbesserung des Nährbodens gleichzeitig üppigeres Wachstum und Verminderung des Volutins erreichen. Tabelle III zeigt dies auf Bluttraubenzuckeragar mit verschieden starkem Blutzusatz. Nur der Loefflersche Serumnährboden macht eine Ausnahme; auf ihm ist im allgemeinen sowohl das Wachstum als auch die Volutinbildung sehr gut; doch auch auf diesem Nährboden haben Schwankungen der Wachstumsüppigkeit, die ja stets vorkommen können, eine Verstärkung oder Abschwächung der Polkörnchen in umgekehrtem Sinne zur Folge.

Tabelle III.

Wachstum und Polkörnchenbildung von 10 DiB-Stämmen (Gruppe I) auf 1proz. Traubenzuckeragar mit verschieden starkem Blutzusatz.

I. Zusatz von 5-proz. frischem Hammelblut.
II. „ „ 30- „ „ „

	Stamm	L 5	346	1	3	163 864	D 16	H 54 c	12 b	13 a	33
I. 1-proz. Traubenzuckeragar + 5-% frisches Hammelblut	Wachstumsart und Intensität	mittelstark klar	mittelstark klar	mittelstark klar	mittelstark klar	mittelstark klar	mittelstark klar	mittelstark klar	mittelstark klar	mittelstark klar	mittelstark klar
	Polkörnchenbildung	+++	+++	+++	++	+++	++	+++	+++	++	+++
II. 1-proz. Traubenzuckeragar + 30-% frisches Hammelblut	Wachstumsart und Intensität	sehr stark weiß	sehr stark weiß	sehr stark weiß	sehr stark weiß	sehr stark weiß	sehr stark weiß	sehr stark weiß	sehr stark weiß	sehr stark weiß	sehr stark weiß
	Polkörnchenbildung	+	+	±	+	+	+	+	++	+	±

II.
auf Nährböden mit und ohne Asciteszusatz[1]).

II. Levinthal-Agar					
a) ohne Ascites			b) mit Ascites		
Wachstumsart und Intensität	Bakterienform	Polkörnchenbildung	Wachstumsart und Intensität	Bakterienform	Polkörnchenbildung
schwach	lange und kurzovoide Involutionsformen	+++	stark	mittellang	negativ oder nur ganz gering
mittelstark	mittellang	±	stark	mittellang	negativ
stark	kurz	negativ bis ±	sehr stark	kurz	negativ bis ±

Auf die Tatsache, daß ohne gewisse Mengen von Phosphor- oder Nukleinsäureverbindungen eine Volutinbildung überhaupt nicht möglich ist, habe ich ja schon vorher hingewiesen.

Zusammenfassend möchte ich sagen: 1) daß Ascitesflüssigkeit die Polkörnchen hemmt, — 2) daß die Volutinbildung im allgemeinen im umgekehrten Verhältnis zur Wachstumsüppigkeit steht.

III. Was ergibt sich aus den beschriebenen Befunden für die bakteriologische Di-Diagnostik? An anderer Stelle führte ich aus, daß wir neben Billigkeit, guter Sterilisierbarkeit und leichter Herstellungsart 3 Hauptforderungen an einen für die Di-Diagnose idealen Nährboden stellen müssen: 1) Die DiB müssen darauf üppig, von Begleitbakterien möglichst ungehemmt wachsen. — 2) Die Form der Stäbchen muß auf diesem Nährboden so beschaffen sein, daß man leicht die echten Loefflerschen DiB von den anderen Corynebakterien unterscheiden kann. — 3) Die Polkörnchenbildung muß gut ausgesprochen sein.

Es ist nicht zu leugnen, daß der alte Loeffler-Nährboden diese 3 Forderungen vollkommen erfüllt. Andererseits (und ich stimme darin mit K. Klein überein) hat er doch so viele Nachteile (teure Preise, schwere Beschaffbarkeit des Serums und dadurch bedingte Abhängigkeit vom Schlachthof, leichte Verunreinigung durch sporenbildende verflüssigende Keime), daß das Streben, diesen Nährboden durch einen anderen zu ersetzen, sehr berechtigt ist.

Wenn wir eine Reihe von Nährböden daraufhin untersuchen, ob sie das Loeffler-Serum zu ersetzen imstande sind, so ist dazu zu sagen:

1) Der Kleinsche Serumalkalialbuminatagar, im Kölner Hygien. Institut längere Zeit hindurch benutzt, ist in seinem Verhalten stark

1) Gekürzt und zusammengezogen aus einer ausführlicheren Tabelle.

schwankend. Das Wachstum ist meistens nicht so üppig wie auf Loeffler-Serum, die Polkörnchenbildung schwächer, die Unterschiede der Bakterienform nicht so ausgesprochen; er gab im ganzen weniger positive Resultate als der Loeffler-Nährboden; die Unterscheidung zwischen echten DiB, Pseudo-DiB und anderen Corynebakterien machte öfters Schwierigkeiten. — 2) Ascitesagar; zwar sehr gutes Wachstum aller DiB, aber die Polkörnchen fehlen fast ganz, außerdem unspezifische Bakterienform. Unterscheidung echter DiB von anderen Corynebakterien unmöglich. — 3) Blutagar (mit etwa 5-proz. frischem Hammelblut); ist für die Unterscheidung von Reinkulturen der Corynebakterienarten wohl geeignet, jedoch im Untersuchungsamte für die Di-Diagnostik der echten Loefflerschen DiB nicht so gut zu verwerten, da wegen der geringen Wachstumsstärke der echten DiB in Mischkulturen (Schmierplatten) diese leicht durch die Begleitbakterien überwuchert und zurückgedrängt werden. Pseudo-DiB und die Bakterien der III. Gruppe (z. B. Para-DiB Lubinski's) wachsen auf ihm sehr gut, auch in Mischkulturen. Es wird deswegen im Kölner Hygienischen Institut neben der Loeffler-Platte auch die Blutplatte zur Di-Diagnose herangezogen. Gleichgutes Wachstum auf beiden Platten wird gewöhnlich nur bei Pseudo-DiB oder anderen nicht pathogenen DiB beobachtet und spricht deswegen gegen die Diagnose „echte Diphtherie". — 4) Levinthal-Agar; trotz starker Polkörnchenbildung der echten DiB für die Di-Diagnose wegen der nur sehr geringen Wachstumsintensität und besonders wegen der oft sehr atypischen Bakterienformen für diesen Zweck (wozu ihn L. ja auch nicht bestimmt hat) nicht zu gebrauchen.

Neben diesen 4 besprochenen habe ich noch eine ganze Reihe anderer Nährböden (Blutagar mit und ohne Zuckerzusatz, gekocht und ungekocht, Bluttraubenzuckeragar mit Milchzusatz, gekocht und ungekocht, Bluttraubenzuckeragar mit Asciteszusatz, gekocht und ungekocht) sowohl an Reinkulturen als auch an Rachen- und Nasenabstrichen ausgeprobt, aber keiner von ihnen allen hat die 3 oben gestellten Forderungen erfüllen können.

Tabelle IV möge kurz hier die Ergebnisse von 2 Versuchsreihen anführen:

Tabelle IV.

Nachweis von Diphtheriebakterien aus Rachen- und Nasenabstrichen auf verschiedenen Nährböden.

I. Versuchsreihe	II. Versuchsreihe
600 Abstriche [279 Rachen (R), 321 Nase (N)] gleichzeitig ausgestrichen auf:	600 Abstriche [305 Rachen (R)], 295 Nase (N) gleichzeitig ausgestrichen auf:
1) Kleinschem Nährboden,	1) Kleinschem Nährboden,
2) Kleinschem Nährboden mit Nukleinzusatz,	2) Loefflers Serumnährboden,
3) Blutagar.	3) Blutagar.
Von diesen 600 Abstrichen waren	Von diesen 600 Abstrichen waren
401 auf allen Nährböden negativ,	471 auf allen Nährböden negativ
199 auf einem oder mehreren der verwandten Nährböden positiv.	129 auf einem oder mehreren der verwandten Nährböden positiv.
Verteilung der positiven und negativen Resultate auf die einzelnen Nährböden:	Verteilung der positiven und negativen Resultate auf die einzelnen Nährböden:

	Kleinscher Agar	Kleinscher Agar m. Nukleinzusatz	Blutagar		
1	+	+	+	50 Abstriche	(26 R, 24 N)
2	+	+	—	12 „	(7 R, 5 N)
3	+	—	+	8 „	(2 R, 5 N)
4	+	—	—	2 „	(0 R, 2 N)
5	—	+	+	26 „	(10 R, 16 N)
6	—	+	—	40 „	(8 R, 32 N)
7	—	—	+	61 „	(27 R, 34 N)
8	—	—	—	401 „	(199 R, 202 N)

Es ergaben also im ganzen positive Resultate:
1) Kleinscher Agar: 72 (35 R, 37 N),
2) Kleinscher Agar mit Nukleinzusatz: 128 (51 R, 77 N),
3) Blutagar: 145 R, 80 N).

	Kleinscher Agar	Loeffler-Serum	Blutagar		
1	+	+	+	15 Abstriche	(9 R, 6 N)
2	+	+	—	5 „	(1 R, 4 N)
3	+	—	+	0 „	(0 R, 0 N)
4	+	—	—	3 „	(0 R, 0 N)
5	—	+	+	40 „	(30 R, 10 N)
6	—	+	—	55 „	(21 R, 34 N)
7	—	—	+	11 „	(3 R, 8 N)
8	—	—	—	471 „	(241 R, 230 N)

Es ergaben also im ganzen positive Resultate:
1) Kleinscher Agar 23 (10 R 13 N),
2) Loeffler-Serum 115 (61 R, 54 N),
3) Blutagar 66 (42 R, 24 N).

1. Versuchsreihe. 600 Abstriche [279 Rachen- (R) und 321 Nasen- (N) Abstriche] gleichzeitig ausgestrichen auf 3 Nährböden: 1) Kleinschem Agar, 2) Kleinschem Agar mit 0,1proz. Nukleinsäurezusatz und 3) auf Blutagar. Von diesen 600 Abstrichen waren 401 (199 R, 202 N) auf allen drei Nährböden negativ, 199 (80 R, 119 N) auf einem oder mehreren Nährböden positiv. Von den verwandten drei Nährböden (in betreff der Verteilung der positiven und negativen Resultate verweise ich auf Tab. IV) zeigte Kleinscher Nährboden die wenigsten positiven Befunde (72; 35 R, 37 N), die Di-Bakterien waren in den von diesen Nährböden angefertigten Präparaten meist nicht sehr zahlreich, die Form nicht immer typisch, Polkörnchenfärbung wechselnd, meist nicht sehr ausgesprochen. Klein-Agar mit Nukleinsäurezusatz gab zwar mehr positive Resultate (128; 51 R, 77 N), die Polkörnchenausbildung war hier durchweg stärker, jedoch nicht nur bei den echten Loefflerschen DiB, sondern auch bei den Pseudo-DiB, so daß also eine Polkörnchenausbildung auf diesem Nukleinsäure-Nährboden für die Di-Diagnose nicht zu verwerten ist. Da auch die Unterschiede in der Stäbchenform bei den einzelnen Corynebakterienarten auf diesem Nährboden nicht sehr ausgesprochen ist, kann auch ein Zusatz von Nukleinsäure zum Kleinschen Nährboden für die Di-Diagnose nicht empfohlen werden. Am besten bewährte sich in dieser Versuchsreihe der Blutagar, indem er die meisten positiven Resultate (145; 65 R, 80 N) ergab, doch auch hier machte in den Mischkulturen die Unterscheidung der einzelnen Arten Schwierigkeiten. Auch zeigten die Pseudo-DiB auf ihm gelegentlich deutliche Polkörnchen, was für die Unterscheidung der echten Loefflerschen DiB. von harmlosen Pseudo-DiB unerwünscht ist.

2. Versuchsreihe. 600 Abstriche (305 R, 295 N) wiederum gleichzeitig ausgestrichen auf 3 Nährböden: 1) Kleinschem Agar, 2) Loefflerschem Nährboden und 3) Blutagar. Von diesen waren 471 (241 R, 230 N) auf allen drei Nährböden negativ, 129 (64 R, 65 N) auf einem oder mehreren der verwandten Nährböden positiv.

Kleinscher Agar ergab 23mal (10 R, 13 N), Loefflerscher Nährboden 115mal (61 R, 54 N), Blutagar 66mal (42 R, 24 N) ein positives Resultat.

Der Kleinsche Nährboden zeigte sich also auch hier durch die geringere Zahl der positiven Ausfälle den anderen Kulturmedien unterlegen. Doch möchte ich nicht verfehlen, darauf hinzuweisen, daß gelegentlich der Kleinsche Nährboden auch recht befriedigende Resultate lieferte. Auf die Tatsache, daß dieser Nährboden in seiner Zusammensetzung und damit in seinen Ergebnissen starken Schwankungen unterworfen ist, hat ja schon Zurukzoglu hingewiesen. Die besten, auch mit dem klinischen Befund am meisten übereinstimmenden Ergebnisse zeigte das Loeffler-Serum. Auf die Gründe dafür brauche ich ja wohl nicht mehr einzugehen. Der Blutagar steht mit seinen

Resultaten etwa in der Mitte zwischen Kleinschem Agar und Loeffler-Nährboden. Die bedeutend geringere Gesamtzahl der positiven Befunde dieser zweiten Versuchsreihe dürfte wohl auf den Fortfall der bei der ersten Versuchsreihe (durch unzpezifische Polkörnchenbildung bei Pseudo-DiB auf Klein-Agar mit Nukleinzusatz) zu verzeichnenden unzpezifischen Resultate zurückzuführen sein. Alles in allem haben die Ergebnisse der Untersuchungen des dritten Abschnittes das allerdings negative Resultat gezeitigt, daß wir zurzeit für die bakteriologische Di-Diagnose keinen Nährboden besitzen, der imstande ist, den alten Loefflerschen Serumnährboden ganz zu ersetzen.

Literatur.

Dale, Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 56. 1910. S. 401. — Falières, [Dissert.]. Bordeaux 1902. — Grimme, Centralbl. f. Bakt. Orig. Bd. 32. 1902 S. 172. — van Herwerden, M. A., Folia mikrobiol. 1917. T. V. H. 1. — Klein, K., Dtsch. med. Wochenschr. 1920. S. 297. — Meyer, Arthur, Bot Ztg. Bd. 62. 1904. S. 113. — Pesch, Karl L., Münch. med. Wochenschr. 1924. Nr. 2. — Ders., Centralbl. f, Bakt. Abt. I. Orig. 1924 (im Druck). — Schumacher, J., Ebenda. Abt. I. Orig. Bd. 88. 1922. S. 362. — Trautmann u. Dale, Ebenda. Abt. I. Ref. Bd. 47. 1910; Anhang S. 137. — Zurukzoglu, Ebenda. Abt. I. Orig. Bd. 86. 1921. S. 440.

Nachdruck verboten.

Ueber feste und flüssige Nährböden zur Kultivierung der Spirochaeta pallida.

[Aus der Universitäts-Hautklinik Köln (Direktor: Prof. Dr. Zinßer).]

Von **Walther Krantz**, Köln-Lindenthal.

Wir kennen bis jetzt noch keine Methode, die es ermöglichte, auf einfache und zuverlässige Weise Reinkulturen der Spirochaeta pallida herzustellen und diese Reinkulturen dann in flüssigen Nährböden beliebig lange und mit der Sicherheit, die wir von der Kultivierung anderer Mikroorganismen her gewöhnt sind, am Leben zu erhalten. Die Schwierigkeiten der Pallida-Reinkultivierung sind zum guten Teil darin begründet, daß unsere Kenntnisse über die Biologie der Spirochaeta pallida noch zu gering sind, als daß wir unter bewußter Ausnutzung der biologischen Eigentümlichkeiten bequeme und sichere Kulturverfahren angeben könnten.

Es ist bekannt, daß Mischkulturen der Spirochaeta pallida mit Bakterien, wie sie im Ausgangsmaterial (Primäraffekt- oder Condylomstückchen vom Menschen) enthalten sind, in erstarrtem Serum nach der von Schereschewsky[1]) 1909 beschriebenen Methode verhältnismäßig leicht gelingen und beliebig lange auf neue Nährböden übertragbar sind. Da die Spirochaeta pallida in diesen Mischkulturen üppig wächst, müssen ihr die Bedingungen, wie sie darin bestehen, zusagen. Daraus ergab sich die Aufgabe, den Komplex von Bedingungen, der in diesen Mischkulturen gegeben ist, in die einzelnen Komponenten aufzulösen und diese auf ihren Einfluß auf das Wachstum der Spirochaeta pallida zu untersuchen. Durch

1) Schereschewsky, Deutsche med. Wochenschr. 1909.

systematische Veränderung der einzelnen Bedingungen mußte es möglich sein, ihre Wichtigkeit oder Notwendigkeit für das Pallida-Wachstum zu erkennen und die Anforderungen, welche ein Pallidanährboden unbedingt erfüllen muß, abzuleiten.

Die Mischkulturen wurden in enger Anlehnung an die von Schereschewsky gegebenen Vorschriften hergestellt. Aus den Versuchsreihen, die ich über technische Einzelheiten der Anlegung dieser Kulturen anstellte, seien folgende Beobachtungen zusammenfassend mitgeteilt:

Verwendbar sind Menschen- und Tiersera (Pferd, Hammel, Kalb, Schwein). Nicht alle Serumproben sind gleich gut geeignet; beispielsweise kann das Serum von einem Pferd brauchbarer sein als das von einem anderen. Aus diesem Grunde ist es ratsam, in jedem Versuche verschiedene Serumproben nebeneinander zu verwenden.

Mit der Verimpfung der Gewebsstückchen braucht man sich keineswegs zu beeilen, wenn man sie nur vor Austrocknung bewahrt. (Condylomstückchen im Reagenzglas mit physiol. Kochsalzlösung überschichtet und 14 Tage bei Zimmertemp. vor Licht geschützt aufbewahrt, ergaben noch Pallida-Kulturen; ebenso Condylomstückchen, die 10 Tage in der feuchten Kammer bei Zimmertemp. gehalten worden waren.) — Das Anwärmen der Nährböden vor der Beimpfung ist überflüssig. (Die Pallida verträgt beträchtliche Temperaturschwankungen, z. B. Einfrieren bei -20^0 und 3stünd. Aufenthalt im Wasserbad von $+45^0$) Die Lebensfähigkeit der Pallida erweist sich also, sofern sie sich in einem an sich günstigen Medium befindet, als unabhängig von den bei der Anelgung der Kulturen praktisch in Frage kommenden Temperaturen und Zeiten.

Es ist gleichgültig, ob man das Gewebsstückchen (es genügt die Größe einer halben Erbse, auch 1—2 cbmm), wie Sowade und Schereschewsky empfehlen, in den kapillaren Raum zwischen Glaswand und Serum setzt, oder ob es in die Tiefe des Nährbodens oder in sein oberes Drittel gebracht wird. Es genügt, das Gewebsstückchen leicht in die oberste Nährbodenschicht einzudrücken. Es ist ferner gleichgültig, ob das Impfmaterial ganz oder zerquetscht in den Nährboden eingeführt wird. (Die Kultur gelingt, wenn man auf den Nährboden eine Aufschwemmung eines im Mörser zerriebenen Condylomstückchens schichtet ebenso, als wenn man das unversehrte Gewebsstückchen auflegt.)

Zur Verhütung der Austrocknung der Nährböden werden die beimpften Röhrchen etwa 1 cm hoch mit Paraffin. liq. überschichtet.

Die Mischkulturen brauchen nicht alle 14 Tage weiter verimpft zu werden. Subkulturen gelingen auch noch nach 2—3 Monaten, vorausgesetzt, daß ein Teil des Nährbodens unverflüssigt geblieben ist.

Feste Nährböden.

Es ist von jeher aufgefallen, daß die Anwesenheit der Begleitbakterien die Ansiedelung der Spirochaeta pallida auf festen Nährböden in hohem Maße begünstigt. Als Erklärung dieser günstigen Wirkung hat man angenommen, daß die Begleitbakterien durch ihren Sauerstoffverbrauch die anaëroben Bedingungen verbesserten, oder auch, daß sie die Eiweiße des Nährbodens aufspalteten und für die Spirochaeta pallida brauchbarer machten. Daß die letzte Erklärung keine wesentliche und unbedingte Bedeutung haben kann, lehrt die

Tatsache, daß die Pallida in Reinkulturen, bei denen diese „vorverdauende" Wirkung der Begleitbakterien wegfällt, zu wachsen vermag.

Um den Einfluß der Begleitbakterien auf die Sauerstoffverhältnisse beurteilen zu können, war es zunächst notwendig, unbeimpfte Nährböden daraufhin zu untersuchen. Ich benutzte als Sauerstoffindikator Methylenblau. Dem flüssigen Serum (10 ccm) wurde ein Tropfen 1proz. Methylenblaulösung zugemischt und erstarren gelassen. Die Röhrchen entfärbten sich alsbald im unteren Teil, die oberen Schichten behielten ihre blaue Farbe. Nach einigen Tagen nahm die Blaufärbung langsam von oben nach unten zu. Es ergab sich daraus, daß das sterile koagulierte Serum in den tieferen Schichten sauerstofffrei wird und daß der Luftsauerstoff nur langsam von oben her eindringt. — Zur Beurteilung der sauerstoffverzehrenden Wirkung der Begleitbakterien wurden hohe Methylenblauzusätze gewählt. 9 ccm flüssiges Serum wurden mit 1 ccm 1proz. Methylenblau gemischt und erstarren gelassen. Die Serumsäule blieb von oben bis unten tief blau. Wurden solche Röhrchen im oberen Drittel mit Mischkultur geimpft, so bildete sich schon nach 24 Std. um das eingebrachte Impfmaterial ein weißer Hof und die Entfärbung schritt in den folgenden Tagen nach unten fort, bis das ganze Röhrchen von der Oberfläche bis zum Grunde entfärbt war. Die Pallidae wuchsen so weit, als das Methylenblau in Leukomethylenblau verwandelt war. Beim Aufbrechen eines entfärbten Röhrchens nahm das Serum an seinen Berührungsflächen mit Luft sogleich wieder seine blaue Farbe an.

Aus den eben skizzierten Versuchen mit methylenblauhaltigen sterilen und infizierten Serumröhrchen läßt sich ableiten, daß zu der dem koagulierten Serum an sich eigenen reduzierenden Kraft die viel stärkere der Begleitbakterien noch hinzukommt und daß die Spirochaeta pallida in diesen Mischkulturen unter sehr sauerstoffarmen Bedingungen wächst.

Welche Bedeutung hat überhaupt die Einwirkung des freien Sauerstoffs auf das Wachstum der Spirochaeta pallida? Bekanntlich sind die bisher angegebenen Kulturmethoden auf der Annahme der Anaërobenkultur der Spirochaeta pallida aufgebaut. In jüngster Zeit gab Manteufel[1]) im Anschluß an die Erfahrung, daß die Recurrensspirochäten freien Sauerstoff im Nährboden verlangen, die Anregung, auch für die Kultur der Syphilisspirochäte aërobe Bedingungen als Verbesserung der Kulturmethode zu versuchen. Noguchi, welcher von Anfang an betont hat, daß die Pallida, im Gegensatz zu einigen anderen Spirochäten, streng anaërob wachse, vermerkt die Beobachtung, daß in den Nährboden eindringender Sauerstoff die Form der Spirochäten schädige. Diese „formschädigende Wirkung" des freien Sauerstoffes habe ich in einigen hierzu angestellten Versuchen untersucht. Oeffnet man eine Kultur — besonders auffallend sind die Beobachtungen an flüssigen Kulturen zu machen — für einige Minuten zur Untersuchung, stellt sie dann von neuem verschlossen in den Brutschrank zurück und untersucht nach 1—2 Tagen wieder, so findet man die Form der Pallida „schlechter", d. h. die Windungen sind flacher als bei der 1. Untersuchung. — Setzt man

1) Manteufel, Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 89. 1923. S. 266.

weiterhin eine exzidierte Papel auf den Boden eines Röhrchens mit physiol. Kochsalzlösung und untersucht nach 10tägiger Aufbewahrung im Dunkeln bei Zimmertemp., so findet man zwischen den auseinanderfallenden Gewebszellen und den Begleitbakterien nur weitgebogene, schwach bewegliche Pallidae; nach der Uebertragung einer so behandelten Papel in Nährböden gewinnen die Spirochäten bei weiterem Wachstum die Enge ihrer Windungen wieder. Diese Beobachtungen zeigen, daß freier Sauerstoff die Pallidae verändert.

Wir hatten bereits festgestellt, daß die Pallida in den Scherschewskyschen Mischkulturen unter recht sauerstoffarmen Verhältnissen wachsen kann. In weiterer Verfolgung dieser Frage stellte ich Versuche mit Nährböden an, denen stark reduzierend wirkende Substanzen (Neosalvarsan, Pyrogallol, zitronensaures Natron, Natriumsulfid) zugesetzt waren, und bei denen die Luft streng abgeschlossen war (Vaseline). Auch auf diesen Nährböden wuchsen die Pallidae, falls im übrigen die Nährbodenzusammensetzung günstig war, reichlich.

Auf Grund dieser Beobachtungen und Versuche stelle ich die Syphilisspirochäten zu den aërophoben Mikroorganismen und leite für Pallidanährboden die Forderung ab, daß anaërobe Verhältnisse gegeben sein müssen.

Wie oben erwähnt, begünstigt das Vorhandensein der Begleitbakterien anscheinend die Ansiedlung der Pallida auf koaguliertem Serum. Es ist aber nicht möglich, Spirochätenwachstum zu erzielen, wenn man Papelstückchen ohne weiteres in flüssiges Serum oder Serumverdünnungen bringt; in diesem Falle wachsen die Begleitbakterien innerhalb weniger Tage und bringen das Serum zur Erstarrung, Pallidae entwickeln sich nicht, sondern sterben sogar im Ausgangsmaterial ab. Es gelingt ferner, von den Mischkulturen so lange Subkulturen anzulegen, als noch ein Rest des Nährbodens unverflüssigt geblieben ist; in dem verflüssigten Nährbodenteil gehen die Pallidae zugrunde. Diese Beobachtungen machen es wahrscheinlich, daß bei der Erklärung der entgegengesetzten Wirkung der Begleitbakterien auf festen und flüssigen Nährböden der Zustand des Nährbodens eine Rolle spielen müsse. Wenn man annimmt, daß von einigen Begleitbakterien spirochätentötende Stoffe erzeugt werden, so werden sich diese in einem flüssigen Medium sofort überall verbreiten, während ihre Ausbreitung im „gelatinierten" Serum unverhältnismäßig stark gehemmt ist. Versuchsreihen mit Nährböden aus flüssigem Serum, dem durch fallende Agarmengen ein mehr oder minder fester Zustand gegeben war, bestätigten meine Annahmen. Erwähnt sei nur ein Versuch: Mischt man 9 ccm Serum mit 1 ccm warmen 1proz. Agars in dest. Wasser, läßt erkalten, impft im oberen Drittel mit einem Papelstückchen und überschichtet mit Vaseline, so beobachtet man folgendes: Der Nährboden ist insoweit fest, als er das eingebrachte Impfmaterial an seiner Stelle hält, aber auch so flüssig, daß er sich beim Neigen des Reagenzglases ausgießen läßt; er steht gewissermaßen zwischen festen und flüssigen Nährböden. In den nächsten Tagen entwickelt sich um das Papelstückchen eine dichte wolkige Trübung und das Serum koaguliert in unmittelbarer Umgebung. Untersucht man nach etwa 4—5 Tagen mittels Kapillarpipette die verschiedenen Schichten des Nährbodens, so findet man im oberen erstarrten Teile sehr reichlich Pallidae, in der Tiefe, im makroskopisch unveränderten Teile, Begleitbakterien und einzelne Pallidae. Die sehr geringe Agarbeimengung (1 $^0/_{00}$!), welche den flüs-

sigen Zustand des Serums etwas nach dem festen hin verschiebt (Gel!), schützt die Spirochaeta pallida vor dem schädlichen Einfluß der Begleitbakterien in reinem flüssigen Serum und gestattet ihr das Wachstum.

Aus diesen Beobachtungen dürfen wir schließen, daß bei der Erklärung des günstigen oder ungünstigen Einflusses der Begleitbakterien auf die Pallida in festen und flüssigen Nährböden der Zustand des Mediums eine Rolle spielen muß.

Eine Beobachtung von Mühlens aus der ersten Zeit der Pallida-Kultivierung beweist ferner, daß auch die Art der vorhandenen Begleitbakterien von wesentlicher Bedeutung ist. Mühlens konnte die Spirochaeta pallida zusammen mit einem zufällig aufgetretenen Begleitbakterium („Zusatz III"), welches an der Oberfläche der flüssigen Nährböden als Häutchen wuchs, in sehr vielen Generationen auf einfachen flüssigen Nährböden (Serumbouillon) ohne besondere Vorkehrungen fortzüchten. Es muß also neben schädigenden Bakterien auch solche geben, die das Wachstum der Pallida auf flüssigem Nährboden nicht hindern, sondern sogar begünstigen. Ich[1]) konnte feststellen, daß es eine Anzahl von Bakterien gibt, welche sich gleich dem Mühlensschen Begleitbakterium verhalten, daß sie im Ausgangsmaterial (Papelstücken) neben den ungünstig wirkenden enthalten sind und schließlich, daß die Trennung der günstig wirkenden von den schädlichen nicht schwierig ist. Ich habe darüber in einer kurzen Mitteilung bereits berichtet[1]).

Ist das Ausgangsmaterial mit einer der Methoden von schädlich wirkenden Begleitbakterien gereinigt, so lassen sich schon in der 2. Passage Kulturen auf flüssigen Nährböden gewinnen, in denen sich am Grunde des Röhrchens Pallidae und an der Oberfläche als dicke Haut die Begleitbakterien entwickeln. Nebenbei bemerkt, zeigt der Zusatz von einem Tropfen 1proz. Methylblaulösung zu solchen Kulturen die stark reduzierende Wirkung der Begleitbakterien an. Wenn nun aber die Mühlensche flüssige Kultur von einem Begleitbakterium und Pallida einem Zufall zu verdanken war, so geben meine Versuche die Möglichkeit, derartige Kulturen beliebig oft und mit bewußter Absicht anzulegen. Auf die Vorteile, welche die Anlegung solcher flüssiger Kulturen für die Fortzüchtung der Stämme und ihre schließliche Reinigung hat, soll weiter unten eingegangen werden; vorläufig soll nur festgehalten werden, daß sich unter den mannigfaltigen Begleitbakterien, welche im Ausgangsmaterial enthalten sind, günstig und ungünstig auf das Pallida-Wachstum wirkende befinden, und daß die Beseitigung der schädlich wirkenden Vorbedingung für das Wachstum der Pallida auf flüssigem Nährboden ist.

1) Die bequemste Methode zur Abtrennung der schädlich wirkenden Begleitbakterien ist die Hindurchführung einer Mischkultur durch einen methylenblauhaltigen Nährboden. 8 ccm flüssiges Serum werden mit 2 ccm 1proz. Methylenblau gemischt, im Wasserbad zur Erstarrung gebracht und im oberen Drittel mit einer Mischkultur beimpft. Nach etwa 8—14 Tagen ist das Methylenblau bis auf das untere Drittel entfärbt. Die Pallidae dringen von obenher zusammen mit den günstig wirkenden Begleitbakterien ein, soweit die Entfärbung reicht. Das Röhrchen wird kurz über der Grenze zwischen blauen und entfärbten Teilen nach Anritzen mit der Feile durchgebrochen und aus dem entfärbten Teil abgeimpft. Vgl. Krantz, Klin. Wochenschr. Jahrg. 2. Nr. 36.

Eine Frage von besonderer Wichtigkeit war, inwieweit das Vorhandensein von Serum, Ascites, Hydrozelenflüssigkeit oder ähnlichem Eiweiß von Bedeutung bei diesen Schereschewskyschen Mischkulturen sei, ob die Spirochaeta pallida unbedingt tierisches Eiweiß in Form von Serum usw. verlange. Zunächst ist festzustellen, daß die Pallida kein frisches unverändertes Eiweiß braucht. denn sie wächst in den Mischkulturen auf koaguliertem, also durch Wärmewirkung bereits verändertem (denaturiertem) Serum. Die bisher bekannten Vorschriften über Pallida-Nährböden fordern konzentriertes oder nur wenig verdünntes Serum. Versuchsreihen mit Nährböden mit verdünntem Serum ergaben, daß man die Serumverdünnung mit Aq. dest. ziemlich weit treiben kann — 5—10 Proz. —, wenn man den Röhrchen auf 10 ccm 1 ccm 2proz. Agarlösung (in Aq. dest.) zur Erstarrung zusetzt. Bei diesen Versuchen mit verdünntem Serum und Agar ergab sich der Vorteil, Nährböden herzustellen, die im Dampf sterilisierbar und vollkommen durchsichtig sind. — Versuche mit Nährböden aus Pepton-Bouillon-agar zeigten, daß die Pallida das Vorhandensein von Serum nicht unbedingt verlangt.

Von großer Bedeutung ist, wie bei den meisten Bakterienarten, auch bei der Spirochaeta pallida die Einstellung der optimalen Reaktion des Nährbodens. Als exakteste Prüfungsmethode hierfür wählte ich nach dem Vorgang von Michaelis (Indikatorenmethode) die Bestimmung der Wasserstoffionenkonzentration. Die Wichtigkeit der genauen Einstellung der Reaktion zeigte sich besonders auffallend bei den Versuchen mit serumarmen und serumfreien Agarnährböden. (Auf Grund dieser Beobachtung sehe ich die Unstimmigkeiten in der Literatur bezüglich der Brauchbarkeit verschiedener Agarnährböden erklärt, nämlich durch die ungenügende Beachtung der Reaktion der Nährböden.) Beispielsweise sei ein derartiger Versuch angeführt. Der Nährboden bestand aus Serum-Wasser-Peptonagar. Die P_H war 7,2. Mit NaOH wurden verschiedene Portionen alkalisiert, bis $P_H = 7{,}4$; 7,6; 8,0 und 8,4. Es wurden Versuchsröhrchen mit den einelnen Portionen gefüllt, mit einer Mischkultur geimpft und mit Vaseline überschichtet. Nach 4 Wochen Brutschrankaufenthalt wurde mikroskopisch untersucht:

$P_H - 7{,}2$	Sp. p.	+ (spärlich)
„ $-7{,}4$	„ „	+++
„ $-7{,}6$	„ „	+++
„ $-8{,}0$	„ „	+
„ $-8{,}4$	„ „	—0

(Diese Zahlen können keine allgemeine Gültigkeit für die „optimale“ P_H für die Pallida geben, schon weil die Aenderung der P_H während des Wachstums der Kultur nicht berücksichtigt ist.)

Zusammengefaßt, haben wir durch die vorstehenden Untersuchungen als wichtige Einzelbedingungen für das Pallidawachstum erkannt: 1) es müssen anaërobe Verhältnisse gegeben sein; 2) im Ausgangsmaterial sind begünstigend und schädigend wirkende Begleitbakterien enthalten; 3) die Spirochaeta pallida verlangt nicht unbedingt serumhaltige Nährböden; 4) die Reaktion des Nährmediums muß genau eingestellt und während des Wachstums der Kultur konstant gehalten werden. Für den Fall, daß die Zusammensetzung des Nährmediums an sich nicht

schon durch seinen Gehalt an sauren und basischen Salzen die Konstanz der Reaktion verbürgt, muß sie durch Hinzufügen von Puffersubstanzen (z. B. Peptonbouillon) erreicht werden.

Flüssige Nährböden.

Nachdem systematische Untersuchungen an Kulturen auf festen Nährböden die Grundbedingungen, von denen das Wachstum der Pallida abhängt, ergeben hatten, konnten die Versuche mit flüssigen Nährmedien durchgeführt werden; zugleich mußten sie die Berechtigung der genannten Bedingungen bestätigen. Bei meinen Versuchen leitete mich der Gedanke, die Anspruchsforderungen der Spirochaeta pallida mit technisch möglichst einfachen und überall vorhandenen Hilfsmitteln zu erfüllen.

Anaërobe Bedingungen sind gegeben, wenn man bei der Zusammensetzung der Nährflüssigkeit an sich reduzierend wirkende Substanzen verwendet oder reduzierende Mittel zusetzt und den Luftzutritt sicher abschließt.

An sich reduzierend wirken bekanntlich Eiweißlösungen, also Bouillon, Serum, Gelatinelösungen, Peptonlösungen. Diese Tatsache läßt sich demonstrieren, wenn man sterilen Röhrchen mit einer dieser Flüssigkeiten einen Tropfen 1proz. Methylenblaulösung zusetzt und mit Vaseline die Luft abschließt: das Methylenblau wird entfärbt. Die reduzierende Fähigkeit läßt sich erheblich steigern, wenn man reduzierende Mittel zusetzt; geprüft wurden ameisensaures Natron, Neosalvarsan, Natriumsulfid, Pyrogallol; die Entfärbung des Methylenblaus ist dann innerhalb von Minuten erreicht.

Von besonderer Wichtigkeit ist es natürlich, die Luft sicher abzuschließen. Auch diese Versuche wurden mit Methylenblau als Sauerstoffindikator an sterilen Röhrchen durchgeführt. Als Ueberschichtungsmittel kam zunächst in Frage das früher oft empfohlene Paraffinöl. Die Versuche mit Methylenblau zeigten ohne weiteres, daß eine 2 cm hohe Schicht Paraffinöl das Eindringen von Luft praktisch gar nicht hindert. Es mußte deshalb ein dichteres Ueberschichtungsmittel, das sich gleichzeitig der Glaswand eng anschließt, gewählt werden. Ich prüfte Paraffin von niederem Schmelzpunkt und Vaseline. Ein Röhrchen z. B. mit methylenblauhaltigem flüssigen sterilen Serum mit geschmolzenem weichen Paraffin oder Vaseline 1 cm hoch überschichtet (die Schicht erstarrt nach wenigen Minuten), entfärbt sich im Laufe der ersten Tage und bleibt dann wochenlang unverändert. Am sichersten schließt sich Vaseline an die Glaswand an; es wurde als brauchbarstes Ueberschichtungsmittel verwendet [vgl. Gates und Olitsky[1])].

Die Forderung der anaëroben Bedingungen im flüssigen Nährboden ist also technisch am einfachsten erfüllt bei Benutzung der an sich reduzierend wirkenden Eiweißlösungen und Ueberschichtung mit Vaseline.

Die schädigend wirkenden Begleitbakterien des Ausgangsmaterials werden nach den früher gegebenen Vorschriften entfärbt. Die Reaktion der Nährflüssigkeiten wird mit Hilfe der Indikatorenmethode von Michaelis eingestellt. Die Stabilisierung der Reaktion während des Wachstums der Kultur wird durch Zusatz von Peptonbouillon oder

1) Gates u. Olitsky, Journ. of exp. med. Vol. 33. 1921. p. 51.

durch Stückchen hart gekochten sterilen Eiereiweißes oder Serumeiweißes erreicht. Manche Nährflüssigkeit, z. B. Serumbouillon (1:1), erwies sich ohne besondere Zusätze vermöge ihres Gehaltes an sauren und basischen Salzen als hinreichend stabil.

Den Anspruchsforderungen der Spirochaeta pallida an ein flüssiges Nährmedium genügt also folgende Anordnung:

Reduzierende Flüssigkeiten von passender und gleichbleibender Reaktion werden nach Beimpfung mit einem Material, das zumindest keine schädlich wirkenden Begleitbakterien enthält, mit Vaseline überschichtet.

Auf Grund dieser allgemeinen technischen Regeln wurden zahlreiche Versuche mit flüssigen Nährböden angestellt; als brauchbare flüssige Nährböden ergaben sich:

1) Stückchen von hart gekochtem Eiweiß werden in Röhrchen mit 8 ccm physiol. Kochsalzlösung im Dampf sterilisiert (das Weiße von einem Ei wird in Stückchen von 0,5 ccm geschnitten und auf 12—15 Röhrchen verteilt). Nach Abkühlen werden zu jedem Röhrchen 2 ccm steriles Serum gegeben. Die Einstellung der Reaktion kann hierbei unterlassen werden, weil die Reaktion des Serums nur in geringem Grade schwankt und innerhalb der den Spirochäten zusagenden Reaktionsbreite bleibt.

An Stelle von Eiereiweiß kann hartgekochtes Serumeiweiß verwendet werden (in die Röhrchen wird etwa 1—2 ccm flüssiges Serum gefüllt und im Dampf 10 Min. hart gekocht, sodann wird mit einem Glasstab das Serum gegen die Röhrchenwand zerdrückt und im übrigen wie oben verfahren).

An Stelle von Serum kann Ascites oder Hydrozelenflüssigkeit verwendet werden; dabei muß die P_H beachtet werden.

2) Ascites + 5 Proz. ameisensaures Natrium; $P_H = 7{,}3—7{,}5$. — 3) Ascites + Blutbouillon āā; $P_H = 7{,}3—7{,}5$. (Mit Blutbouillon ist eine Bouillon bezeichnet, die aus den Blutkuchenresten von Wassermann-Proben gewonnen wird. Blutkuchen wird mit der gleichen Menge Leitungswasser 2 Std. im Dampf gekocht, durch Leinen ausgedrückt, durch Papier filtriert und im Dampf sterilisiert.) — 4) Serum + Blutbouillon āā $P_H = 7{,}3—7{,}5$. — 5) Serum 1 Tl. + 1proz. Pepton-Blutbouillon, 2 Tl. $P_H = 7{,}5$. — 6) 2proz. Peptonlösung in dest. Wasser; $P_H = 7{,}3—7{,}5$. — 7) Serumbrocken + 2proz. Gelatine-Blutbouillon; $P_H = 7{,}2—7{,}5$. — 8) Serumbrocken + 2proz. Gelatine-Kochsalzlösung; 7,3—7,5. — 9) Serumbrocken + Blutbouillon; $P_H = 7{,}3—7{,}5$. — 10) 0,5proz. Harnstofflösung in physiol. Kochsalzlösung und Leitungswasser zu gleichen Teilen.

Zur Weiterverimpfung flüssiger Kulturen auf neue flüssige Nährböden wird mittels Kapillarpipette Material vom Grunde des Kulturröhrchens entnommen und 1—2 Tropfen übertragen. Es gelang noch, von 2 Mon. alten flüssigen Kulturen Subkulturen zu erhalten.

Auf einzelnen flüssigen Nährböden war bereits am 3. Tage nach Anlegung der Kultur — im Gegensatz zu Angaben in der Literatur, daß 10—14 Tage vergingen, bis die Pallidae zu deutlicher Entwicklung kämen — üppiges Wachstum festzustellen. Damit ist Berechtigung zu der Erwartung gegeben, daß es gelingen wird, Nährböden zusammenzustellen, welche eine Schnelligkeit der Pallida-

Vermehrung gestatten, wie wir sie von Bakterienkulturen her gewöhnt sind.

Die Tatsache, daß es möglich ist, die Pallida auf serumfreien flüssigen Nährböden zu züchten, ist von Bedeutung, weil es für manche Versuche notwendig ist, die Pallidae frei von Serumbeimengungen zu haben. Außerdem haben wir den Vorteil, bequem und vollkommen sicher sterilisierbare Nährflüssigkeiten gegenüber dem umständlich und unsicher sterilisierbaren Serum herstellen zu können.

Bei der Uebertragung eines Spirochätenstammes in verschieden zusammengesetzte Nährflüssigkeiten zeigten sich neben Unterschieden in der Intensität des Wachstums Unterschiede in morphologischer Beziehung (Längenwachstum, Windungstiefe, Dicke des Spirochätenleibes). Die Spirochäte erscheint also morphologisch als Produkt ihres Milieus.

Die Uebertragung von festen auf flüssige Nährböden nach Beseitigung der schädlich wirkenden Bakterien gelingt unter Umständen schon in der zweiten Passage. Man hat dann eine Kultur, in der am Grunde des Röhrchens die Pallida, an der Oberfläche der Nährflüssigkeit als dichte Haut die begünstigenden Begleitbakterien wachsen. Verimpft man von einer solchen Kultur einen Tropfen in einen neuen flüssigen Nährboden und überschichtet sofort mit Vaseline, so finden die Pallidae gute Wachstumsmöglichkeiten, die Begleitbakterien hingegen schlechte, weil ihnen durch die Vaselineschicht der Luftsauerstoff abgeschnitten wird. Man erhält somit eine Anreicherung der Pallidae, die Begleitbakterien bleiben an Zahl weit zurück. Diese Anreicherung wird bei Verwendung einer Nährflüssigkeit, welche zwar den Spirochäten zusagt, aber nicht den Begleitbakterien, noch deutlicher; eine derartige Nährflüssigkeit ist z. B. eine 2proz. Peptonlösung. Weitere Versuche in dieser Richtung lassen erhoffen, die Differenz in den Wachstumsmöglichkeiten zugunsten der Pallida noch zu verstärken.

Die Anreicherung der Pallida in flüssigen Nährböden ist außerdem von ganz besonderem Vorteil bei der Reinzüchtung der Pallida. Das flüssige, reichlich Pallida enthaltende Material kann nach der bekannten Methode von Noguchi mit einer feinen Kapillare in Form eines tiefen Stiches in die Mitte von Serum-Agarröhrchen gebracht werden. Die Pallidae entwickeln sich dann seitlich vom Stichkanal als zarte Wölkchen. Bekanntlich übertrug Noguchi bei seinen Reinzüchtungsversuchen Kaninchenhodenmaterial in Serumwasser und dann die reichlich Pallidae enthaltende Flüssigkeit mittels Kapillare auf Serumagar. Beim Ausgang von menschlichem Material war diese Methode nicht anwendbar (der Grund dafür ist das Vorhandensein der schädlich wirkenden Begleitbakterien), und die Reinzüchtung war viel zeitraubender und schwieriger. Die Einschiebung einer Passage auf flüssigem Nährboden nach Entfernung der schädlichen Begleitbakterien verringert also die Schwierigkeiten bei der Reinzüchtung aus menschlichem Material wesentlich. Mit dem absichtlichen Wechsel zwischen festen und flüssigen Nährböden in der eben beschriebenen Weise ist die Methode zur Erzielung flüssiger Reinkulturen der Spirochaeta pallida beim Ausgang von menschlichem Material gegeben.

Nachdruck verboten.

Fischparasiten des Bodensees.

Von **Ferdinand Zandt**, Konstanz.

Mit 33 Abbildungen im Text.

Inhaltsübersicht. Seite

1. Einleitung 225
2. Systematisch-anatomische und tiergeographische Notizen 227
3. Vergleichende Betrachtungen 261
4. Verzeichnis der Parasiten, nach Wirten und Parasiten geordnet 264
5. Literaturverzeichnis 269

1. Einleitung.

Die Erforschung der Fischparasitenfauna der größeren Schweizer Seen ist schon vor längerer Zeit erfolgreich durchgeführt worden. So hat Zschokke die Verhältnisse im Genfersee, Nufer im Vierwaldstättersee bearbeitet. Im Gegensatz dazu ist bis jetzt die Bearbeitung dieses Gebiets im Bodensee unterblieben. Wohl hat es an Einzelarbeiten über Fischschmarotzer des Bodensees nicht gefehlt. Um nur einen Namen zu nennen, hat Nenning in den „Fischen des Bodensees" (1834) auch die Fischschmarotzer aufgeführt.

Zunächst möchte ich für wertvolle Unterstützung meiner Arbeit danken. In erster Linie gilt mein Dank Herrn Prof. Dr. Auerbach in Karlsruhe, von dem der Plan dieser Arbeit ausging und der mich durch liebenswürdige Ueberlassung von Literatur unterstützte. Herr Prof. Dr. Lauterborn in Freiburg hat mich durch Rat und freundliche Ueberlassung von Literatur wesentlich gefördert. Durch seine Unterstützung bin ich außerdem in den Genuß eines Stipendiums vom Senat der Universität Freiburg gelangt, wofür auch an dieser Stelle mein herzlicher Dank ausgesprochen sei.

Die vorliegende Arbeit erhebt nicht den Anspruch einer erschöpfenden Darstellung der Fischparasitenfauna des Bodensees. Bei weiterem Eindringen in dieses Gebiet kam ich immer mehr zur Ueberzeugung, daß ein fertiger Abschluß dieser Untersuchungen im Laufe von wenigen Jahren unmöglich ist. Deshalb habe ich mich ganz auf den Obersee und Ueberlingersee beschränkt und die Fische des Untersees, dieses biologisch ganz anders gearteten Seenteils, aus dem Bereich der Untersuchungen ausgeschlossen (mit zwei Ausnahmen). Aber auch auf diesem enger begrenzten Arbeitsfeld wird für kommende Untersuchungen, besonders auf dem Gebiet der Myxosporidien und Kiementrematoden, sicher noch viel Neuland vorhanden sein.

Untersuchungs- und Konservierungsmethoden.

Nach Möglichkeit wurde alles Parasitenmaterial in vivo untersucht. Das konnte geschehen dank der günstigen Lage der Anstalt für Bodenseeforschung in Konstanz-Staad, deren Räume sich im gleichen

Gebäude befinden wie die Bodenseefischerei-Genossenschaft Konstanz-Staad. So war ich in der günstigen Lage, das meiste Fischmaterial frisch vom Fang zu erhalten. Für die Möglichkeit, das eingegangene Material jederzeit zu untersuchen, bin ich der Bodenseefischerei-Genossenschaft noch besonderen Dank schuldig.

Die Konservierung der meisten Parasiten erfolgte mit heißem Sublimat-Alkohol. — Kiemen- und Hauttrematoden: Durch mikroskopische Untersuchung des sorgfältig abgestrichenen Kiemen- und Hautschleims werden sie festgestellt; durch Einschluß in Glyzerin lassen sie sich längere Zeit aufbewahren; Schnittfärbung mit Boraxkarmin. — Entotrematoden: Die Total- und Schnittfärbung mit Boraxkarmin gibt gute Bilder. — Cestoden: Totalfärbung auch hier mit dem gleichen Farbstoff; Schnittfärbung mit Eisenhämatoxylin. — Nematoden: Untersuchung in Glyzerin oder in Glyzerin-Gelatine; in letzterem auch ihre Aufbewahrung. Zur Konservierung dient Glyzerin-Alkohol. — Acanthocephalen: Untersuchung — soweit in vivo nicht möglich — in Xylol; Totalfärbung gelegentlich erfolgreich mit Boraxkarmin. — Myxosporidien: Konservierung mit heißem Sublimat-Alkohol; Färbung von Ausstrichpräparaten und Schnitten nach Giemsa (Romanowsky-Färbung).

Statistisches[1]).

Untersucht wurden folgende 26 Fischarten (Bestimmung nach Smolian, Merkbuch der Binnenschifferei, und Nitsche-Hein, Die Süßwasserfische Deutschlands. 1909):

1. Perca fluviatilis L., Barsch, 2. Lucioperca sandra Cuv., Zander, 3. Cottus gobio L., Groppe, 4. Lota vulgaris Cuv., Trüsche, 5. Anguilla vulgaris L., Aal, 6. Trutta lacustris L., Seeforelle (außerdem ein Trutta iridea Gibb., gefangen an der Aachmündung), 7. Salmo salvelinus L., Seesaibling, 8. Thymallus vulgaris Niels., Aesche, 9. Coregonus Wartmanni Bloch, Blaufelchen, 10. Coregonus macrophthalmus Nüsslin,, Gangfisch, 11. Coregonus maraena Bloch, Große Maräne, 12. Coregonus fera Jur., Sandfelchen, 13. Coregonus acronius Rapp., Kilch, 14. Tinca vulgaris Cuv., Schleie, 15. Barbus fluviatilis Ag., Barbe, 16. Phoxinus laevis Ag., Elritze, 17. Squalius cephalus L., Döbel, 18. Leuciscus leuciscus L., Hasel, 19. Leuciscus rutilus L., Plötze, 20. Scardinius erythrophthalmus L., Rotfeder, 21. Abramis brama L., Brachsen, 22. Blicca bjoerkna L., Blicke, 23. Alburnus lucidus L., Laube, 24. Cobitis barbatula L., Bartgrundel, 25. Esox lucius L., Hecht, 26. Silurus glanis L., Wels.

Vollkommen untersucht wurden etwa 200 Fische; außerdem wurden bei mindestens 1000 Fischen partielle Untersuchungen vorgenommen (teils Kiemen- und Haut-, teils Augen- oder Eingeweideuntersuchungen). Diese letztere Methode entspricht den strengen Forderungen für faunistische Zwecke nicht völlig, aber die teuren Fischpreise — eine Folge der allgemeinen wirtschaftlichen Notlage — zwangen zu diesem Verfahren, trotz der schon oben erwähnten wertvollen Beihilfe durch ein Stipendium.

---

1) Der statistische Teil mit genauer, zeitlich geordneter Registrierung der Einzeluntersuchungen mußte aus Raumersparnis beim Druck ausscheiden.

2. Systematisch-anatomische und tiergeographische Notizen.

Trematoden.

Gyrodactylus elegans v. Nordmann. Dieser Ektotrematode ist im Bodensee nicht gerade häufig; von 17 untersuchten Trüschen (Lota vulgaris Cuv.) war eine auf den Flossen infiziert, von 3 Brachsen (Abramis brama L.) ein Tier (Kiemen); von 12 Groppen eine (Kiemen); die Flossen der Bartgrundel waren von 12 Gyrodactylen befallen.

Die Anatomie des Parasiten stimmt mit der von Kathariner gegebenen überein; nur die Länge der Haken schwankt stark, wie schon Wegener hingewiesen hat; als Maximallänge der Mittelhaken fand ich 0,092 mm (Wegener 0,072 mm), als Maximallänge der Randhaken 0,04 mm (Wegener 0,032 mm). — In Ostpreußen hat Wegener ebenso eine gewisse Seltenheit dieses Trematoden festgestllt. Für Vierwaldstättersee und Rhein ist er nachgewiesen, im Genfersee dagegen nicht.

Gyrodactylus gracilis Kathariner. Auf den Kiemen von Alburnus lucidus L. fand ich einmal (8. 6. 23) diesen bis jetzt wenig beobachteten Trematoden in Gesellschaft von 6 Dactylogyrus minor Wag. Die Länge meines Individuums betrug in Kontraktion 0,225 mm (nach Kathariner 0,18—0,32 mm); charakteristisch sind die beiden großen Mittelhaken der Haftscheibe (Länge 0,05 mm), deren basale, stark verbreiterte Enden auseinanderstreben; die ventrale Verbindungsklammer ist stark gebogen; eine dorsale Klammer, wie sie von Kathariner angegeben, fehlt; die kleinen Randhaken haben eine Länge von 0,0085 mm. Uebereinstimmung besteht auch in der weit vorn gelegenen Mundöffnung, von der ein röhrenförmiger Präpharynx zum Pharynx führt. Alburnus lucidus L. tritt als neuer Wirt zu den bisher bekannten (Cyriniden und Cobitis fossilis L.).

Dactylogyrus sphyrna v. Linstow. Diese Art, bis jetzt von v. Linstow auf Abramis vimba L. und von Wegener außerdem auf Blicca bjoerkna L. festgestellt, beobachtete ich in einem Fall auf den Kiemen eines Rötels (Leuciscus rutilus L.); der Beschreibung Wegeners brauche ich nichts hinzuzufügen.

Dactylogyrus alatus v. Linstow. Unter 15 untersuchten Lauben (Alburnus lucidus L.) fanden sich auf den Kiemen zweier Tiere (Februar) einmal 2, das andere Mal 3 Individuen dieser Art. Bei sonst völliger Uebereinstimmung mit Wegener fehlte bei zwei Tieren die ventrale Klammer der Haftscheibe. Bis jetzt bekannte Wirte sind Blicca bjoerkna L. durch von Linstow und Alburnus lucidus L. durch Wegener (Ostpreußen).

Dactylogyrus fallax Wagener. Diesen Kiementrematoden habe ich auf Leuciscus rutilus L. und Scardinius erythrophthalmus L. festgestellt; von ersterem Wirt waren nur ca. 5 Proz. befallen; von Scardinius erythrophthalmus L. 2 von 4 untersuchten Tieren. Auf Blicca bjoerkna L., einem Wirt in Ostpreußen (Wegener), habe ich den Schmarotzer nicht beobachtet.

Dactylogyrus difformis Wagener. Dieser Parasit, der hauptsächlich von Scardinius erythrophthalmus L., in einem einzigen Fall auch von Squalius cephalus L. (durch Wegener in Ostpreußen) bekannt war, kommt im Bodensee außer auf Squalius cephalus L. auch auf Blicca bjoerkna L. vor, auf beiden Wirten

nicht häufig. Das einzige Individuum von Squalius cephalus L. war 0,375 mm lang und 0,075 mm breit; mit den 4 Kopfzipfeln heftete es sich an dem Objektträger fest. Der Pharynx hat einen Durchmesser von 0,019 mm. Die großen Mittelhaken der Haftscheibe stimmen mit der Abbildung von Wegener überein und sind 0,043 mm lang. Die dorsale Verbindungsklammer (Länge 0,027 mm) zeigt eine andere Gestalt wie bei Dact. diff. (siehe Fig. 1b), ähnelt eher derjenigen von Dactylogyrus parvus Weg. Die Randhaken, von gleicher Gestalt wie bei Dact. difformis, sind 0,017—0,026 mm lang. Das ventrale Chitinstück mit seinen geraden Querfortsätzen gleicht wiederum demjenigen von Dact. parvus (siehe Fig. 1d); Länge des Stiels 0,013 mm. Das Kopulationsorgan weicht wesentlich von dem Typus bei Dact. difformis und bei Dact. parvus ab (siehe Fig. 1a); mit seiner Länge von 0,03 mm übertrifft es das Gebilde von Dact. difformis ganz beträchtlich. Außerdem liegt am Rand des Receptaculum seminis eine gebogene Chitinröhre von 0,008 mm Länge (siehe Fig. 1c). Wegener spricht von einer ähnlichen, 0,01 mm langen Röhre.

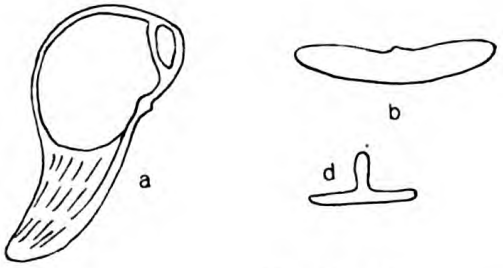


Fig. 1a—d.

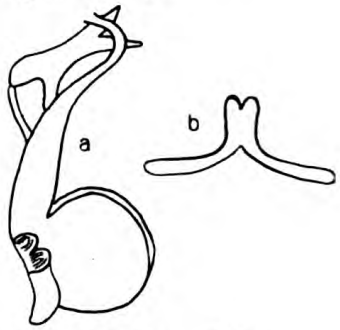


Fig. 2a und b.

Fig. 1a—d. Dactylogyrus difformis Wag. (auf Squalius cephalus L.).
Fig. 1a. Kopulationsorgan. Vergr. ca. 1100×1.
Fig. 1b. Dorsale Verbindungsklammer der Haftscheibe. Vergr. ca. 900×1.
Fig. 1c. Chitinröhre am Rand des Receptaculum seminis. Vergr. ca. 2000×1.
Fig. 1d. Ventrales Chitinstück der Haftscheibe. Vergr. ca. 360×1.

Fig. 2a und b. Dactylogyrus difformis Wag. (auf Blicca bjoerkna L.).
Fig. 2a. Kopulationsorgan. Vergr. 950×1.
Fig. 2b. Ventrales Chitinstück der Haftscheibe. Vergr. ca. 1650×1.

Aehnlich abweichende Verhältnisse zeigt das einzige Exemplar, das sich zusammen mit 2 Dactylogyrus crucifer auf den Kiemen von Blicca bjoerkna L. vorfand. Die Größenmaße entsprechen ungefähr denjenigen von Dact. difformis; die dorsale Verbindungsklammer der Haftscheibe, ähnlich gestaltet wie bei Dact. parvus, legt sich wie dort in die Gabel der beiden Mittelhaken, nicht unterhalb davon wie bei Dact. diff. Das ventrale Chitinstück, 0,0137 mm lang (siehe Fig. 2b) besitzt zwei lange, einfach geschwungene Fortsätze (Gesamtbreite 0,034 mm); die Basis des Stiels verbreitert sich im Gegensatz zu beiden Arten in zwei kurze Fortsätze wie bei Dactylogyrus fraternus Wegener. Das Kopulationsorgan von einer Länge von 0,042 mm zeigt im Bau wesentliche Abweichungen (siehe Fig. 2a).

Diese mancherlei Schwankungen in der Ausbildung der Organe berechtigen wohl kaum zur Aufstellung neuer Arten, wenn es auch

auffällig ist, daß vielfach die sekundären Geschlechtsorgane (Kopulationsorgan usw.), wenn wir diese so nennen wollen, diesen Abweichungen unterliegen; auch sind derartige Variationen bis jetzt nur ganz wenig bekannt geworden, um daraus allgemeine Schlüsse ziehen zu können. Möglicherweise zeitigen spätere Untersuchungen weitere ähnliche Uebergänge zwischen Dactylogyrus difformis Wagener und Dact. parvus Wegener und damit die Aussicht, die Spezies Dactylogyrus parvus Weg. einzuziehen und alle hierher gehörenden Formen unter der — allerdings wesentlich verbreiterten — Spezies Dactylogyrus difformis Wagener zu vereinigen.

Dactylogyrus minor Wagener. Diese von Wagener und Wegener (Ostpreußen) auf Alburnus lucidus L., von v. Linstow auf Blicca bjoerkna L. beobachtete Art habe ich auf den Kiemen des erstgenannten Fischs gefunden (bei 2 von 15 untersuchten Tieren); einmal 6 Individuen im Verein mit Gyrodactylus gracilis Kathariner; das andere Mal 10 Trematoden. Körperbau und Größenverhältnisse bieten nichts Neues.

Dactylogyrus crucifer Wagener. Dieser Kiemenschmarotzer, bis jetzt bekannt von Leuciscus rutilus L. und Scardinius erythrophthalmus L., erscheint im Bodensee auf Leuciscus rutilus L. (Infektion ca. 45 Proz. aller untersuchten Tiere), Blicca bjoerkna L. (Infektion ca. 10 Proz.), Alburnus lucidus L. (Inf. ca. 20 Proz.) und Abramis brama L. (bei beiden untersuchten Fischen); er kommt während des ganzen Jahres vor; im Sommer ist die Zahl der befallenen Wirte größer als im Winter. Die Höchstzahl des Parasiten auf einem Wirt (Leuciscus rutilus L.) war etwa 30.

Der Bau dieser Dactylogyren-Art stimmt im allgemeinen mit den Befunden von Wegener überein. Doch sind die Maße zum Teil größer als die dort angegebenen, z. B. Länge bis 0,77 mm (Wegener 0,5 mm), Mittelhaken der Haftscheibe bis 0,06 mm (Wegener 0,043 mm). Daneben treten eine Reihe von Abweichungen in der Ausbildung der Chitingebilde auf. Einmal fehlt das typische ventrale Verbindungsstück der Haftscheibe in vielen Fällen; die gleiche Beobachtung wurde auch bei anderen Dactylogyren-Arten gemacht. In einem Fall trugen die großen Mittelhaken am distalen Ende eine Chitinschlinge, wie sie bei anderen Arten vorkommen (Dactylogyrus

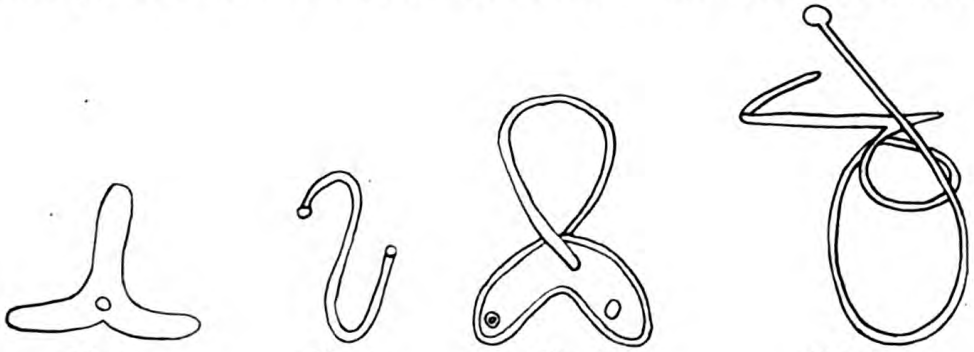


Fig. 3. Fig. 4. Fig. 5. Fig. 6.

Fig. 3—6. Dactylogyrus crucifer Wag.
Fig. 3. Ventrales Verbindungsstück der Haftscheibe.
Fig. 4. Seitliches Chitingebilde am Ovarium.
Fig. 5 u. 6. Chitingebilde am Rande des Receptaculum seminis.

tuba, alatus, falcatus u. a. Bei einem Parasiten von Abramis brama L. hatte das ventrale Verbindungsstück der Haftscheibe eine wesentlich andere Gestalt wie bei Dact. crucifer (siehe Fig. 3). Bei zwei Tieren waren am Rande des Ovariums Chitingebilde sichtbar; dabei bestand dieses Gebilde einmal (auf Leuciscus rutilus L.) aus einer doppelt gebogenen Röhre (siehe Fig. 4). Bei dem Trematoden von Abramis brama L. (bei dem auch das oben besprochene ventrale Verbindungsstück auftrat), waren am Außenrande des Receptaculum seminis zwei röhrenartige Gebilde vorhanden: Eines besteht aus einer kurzen gebogenen Röhre mit einer Platte, auf welcher das eine Ende der Röhre ausmündet (Länge 0,015 mm; siehe Fig. 5). Ein ganz ähnliches Gebilde hat Wegener für Dact. cornu v. Linstow abgebildet. Davor liegt eine mehrfach gewundene Röhre von 0,03 mm Länge (siehe Fig. 6), die an das entsprechende Gebilde von Dact. spec. bei Wegener erinnert. Bestimmend zur Einordnung dieser Form in die Spezies crucifer (wenigstens vorläufig) war vor allem die völlige Gleichheit des Kopulationsorgans.

Dactylogyrus parvus Wegener. Diese von Wegener auf Alburnus lucidus L. beschriebene Art (Ostpreußen) habe ich in einem einzigen Individuum auf den Kiemen von Squalius cephalus L. gefunden; meine Beobachtungen decken sich mit der Beschreibung Wegeners.

Dactylogyrus similis Wegener. Einmal fand ich diesen Kiementrematoden (13 Tiere) neben 15 Exemplaren von Dactylogyrus crucifer bei Leuciscus rutilus L., die gleiche Vergesellschaftung auf demselben Wirt wie bei Wegener.

Die Kopulationsorgane der beiden nahe verwandten Arten Dact. similis und sphyrna unterscheiden sich durch ihre Gestalt gut. Als wichtiges Unterscheidungsmerkmal führt Wegener das Fehlen eines Chitingebildes am peripheren Rand des Receptaculum seminis bei Dactylogyrus similis an; nach dem, was ich bei den anderen Arten über dieses recht unsichere Gebilde ausgeführt habe, scheint mir die Hereinziehung dieses Chitinorgans zur Unterscheidung etwas zweifelhaft. Die beiden großen Mittelhaken sind nach meiner Messung 0,061 mm lang (ebenso lang wie bei Dact. sphyrna), nach Wegener 0,051—0,054 mm; die beiden großen Randhaken sind so lang wie bei Wegener (0,038 mm). Die Verbindungsklammer weist gegenüber der Wegenerschen Abbildung eine Verdickung in der Mitte auf; also auch hier eine gewisse Variationsbreite. Mein Material war für ein sicheres Urteil zu gering; doch scheint mir die Existenzberechtigung dieser Art einer Nachprüfung bei reichlicherem Material zu bedürfen.

Zusammenfassend kann über die Gattung Dactylogyrus gesagt werden, daß bei fast allen im Bodensee vorkommenden Arten eine große Variationsmöglichkeit der Chitinorgane vorhanden ist; dasselbe berichtet Wegener von Ostpreußen. Wenn dieser in den zahlreichen Unterschieden systematische Merkmale zur Aufteilung in kleinere Gattungen (für die Zukunft) sieht, glaube ich, ihm hierin Recht geben zu können. Vielleicht wird die Zahl der vielen Arten auch durch Zusammenfassung einzelner Spezies zu einer einzigen durch spätere Forschungen möglich sein; Uebergänge zwischen einzelnen nahe verwandten Arten sind schon vorhanden.

Auf jeden Fall haben wir — bei dem jetzigen Zustand oder nach

Zusammenfassung einzelner Arten — Spezies mit großer Variationsbreite durch die Unterschiede in den Chitingebilden. Zu einem abschließenden Urteil sind die Ergebnisse meiner Untersuchung zu gering; möglicherweise handelt es sich dabei um Lokalvariationen.

Ancyrocephalus monenteron Wagener. Mit diesem Parasiten waren 50 Proz. der untersuchten Hechte in ihren Kiemen infiziert; für Ostpreußen stellte Wegener eine Infektionsstärke von 35 Proz. fest. Wie dort, treten im Bodensee die ersten geschlechtsreifen Individuen im Mai auf; von September—Oktober ab sind nur Tiere ohne Geschlechtsprodukte anzutreffen. Die größte Zahl dieses Trematoden auf einem Wirt war ca. 60. — Ueber Bau und Größenmaße brauche ich nichts hinzuzufügen.

Sein Vorkommen ist bis jetzt festgestellt für Wien, Venedig, Stockholm und Ostpreußen; nachdem der Bodensee noch hinzutritt, erscheint es auffällig, daß Ancyrocephalus monenteron in den Schweizer Seen nicht beobachtet wurde.

Ancyrocephalus siluri n. sp. Auf den Kiemen eines am 16. 5. 23 bei Friedrichshafen gefangenen männlichen Wels (Silurus glanis L.) von 40 cm Länge saßen etwa 200 Exemplare dieser neuen Spezies. Leider gingen sämtliche Tiere ein, bevor Untersuchungen in vivo durchgeführt werden konnten; auch die Fixierung gelang nicht mehr nach Wunsch, so daß die Untersuchung des toten Materials erschwert war, feinere histologische Momente dabei überhaupt nicht mehr berücksichtigt werden konnten.

Die Gesamtlänge unseres Trematoden beträgt bis 1,3 mm; die größte Breite liegt zwischen 0,15 und 0,175 mm etwa in der Mitte des Körpers; der Körper ist dorso-ventral abgeplattet; das Vorderende ist etwas breiter als das Hinterende (siehe Fig. 7); die ventral gelegene kleine Mundöffnung ist rund und leitet durch ein kurzes Verbindungsstück zu dem dorsal gelegenen kugeligen Pharynx über (Durchmesser 0,05 mm). Sein Innenraum ist spaltförmig; zwischen seiner Muskulatur sind mehrere (6?) Pharyngealdrüsen sichtbar. Zwischen Rückenwand und Pharynx liegt nur ein schmaler parenchymatischer Saum. Der anschließende unpaare kurze Oesophagus zieht dorsalwärts und gabelt sich in die beiden langen Darmschenkel (Länge der Darmschenkel ca. 0,7 mm). Diese ziehen, mehrfach geschwungen, Ovar und Hoden zwischen sich einschließend, bis hinter den Hoden, wo die Vereinigung der beiden Schenkel erfolgt. Das unpaare Darmstück setzt sich noch ca. 0,13 mm weit nach hinten fort. Der Verlauf der Darmschenkel, die dorsalwärts durch die Dotterstöcke, mit Ausnahme des unpaaren Endstückes bedeckt sind, ist an Totalpräparaten nur schwer festzustellen.

Die Augen besethen, wie bei den übrigen Ancyrocephalus-Arten, aus 4 trapezförmig angeordneten, dorsal gelegenen Pigmentflecken, von denen das hintere Paar größer ist als das vordere. Ueber das Gehirn glaube ich, so viel sagen zu können, daß es aus einem strangförmigen Organ im Bereich des hinteren Augenpaares besteht, von dem 2 Aeste nach hinten abgehen.

Neben dem Pharynx befindet sich beiderseits eine Gruppe von Drüsen, die an der Vorderseite in mehreren Gruben ausmünden. Die Untersuchung des Exkretionssystems bot aus den oben erwähnten Gründen Schwierigkeiten; doch kann aus Totalpräparaten und Schnitten so viel gesagt werden, daß jederseits zwei Längskanäle in stark ge-

schlängeltem Lauf ziehen, die etwa in Höhe des Darmendes ineinander übergehen.

Der Keimstock ist etwas länger als breit (0,125 mm lang, 0,1 mm breit); der hintere Teil des Ovars enthält kleine und dicht zusammengedrängte Eier; im vorderen Abschnitt liegen große, fast fertige Eizellen; Größe der Keimzelle: 0,0187 mm; Größe des Keimbläschens bis 0,0125 mm, des Keimflecks 0,005 mm. Der Ovidukt entspringt aus dem Vorderteil des Keimstocks und verläuft ziemlich horizontal nach der linken Körperwand zur Mündung. Der Uterus geht nach rechts ab, macht zunächst eine Windung gegen den Hoden zu und verläuft auf der rechten Körperseite nach vorn, um hier rechts hinter dem Pharynx auf der Ventralseite auszumünden (Länge des Uterus 0,162 mm). Unmittelbar hinter dem Ovarium, teilweise noch den Hinterrand von diesem bedeckend, folgt der eiförmige große Hoden (Länge 0,13 mm, Breite 0,1 mm). Das Vas deferens führt in Schlangenlinie auf der linken Seite dorsal über den Ovidukt hinweg und bildet in seinem Endabschnitt eine große birnförmige Vesicula seminalis (Länge 0,05 mm), die nicht ganz median, sondern mehr rechts ausmündet. Der Kopulationsapparat besteht aus einer mehrfach gewundenen Chitinröhre (siehe Fig. 8), von der das eine Ende in Form eines Knopfes auf oder in der Vesicula seminalis liegt, sich dann nach rechts zieht und mit dem andern freien Ende in einer kleinen Schaufel mit stark gekrümmtem Endhaken ausläuft; die Tätigkeit dieses Gebildes ist wohl so aufzufassen, daß der Endhaken in die Vagina eingreift und über die Schaufel das Sperma einleitet (Länge des Kopulationsapparates 0,12 mm). Bei einigen Exemplaren fand ich außerdem seitlich unterhalb dieses Apparates eine mehrfach kreisförmig aufgewundene dünne Chitinröhre mit birnförmig verbreitertem Anfangsteil, ohne eine Verbindung mit dem eigentlichen Kopulationsorgan feststellen zu können; dieses Gebilde erinnert an ähnliche Bildungen bei Dactylogyren.

Die Dotterstöcke sind die am stärksten ausgebildeten Teile der Geschlechtsorgane; sie beginnen unpaar unmittelbar hinter dem Pharynx, verlaufen in zwei breiten seitlichen Feldern, die die Darmschenkel bedecken und nur eine schmale Zone freilassen. Vor dem Ovarium streben die beiden Dottergänge nach der Mediane und vereinigen sich hier. Im weiteren Verlauf bleiben Ovar und Hoden zwischen den beiden Seitenstämmen des Dotterstockes frei; erst hinter dem unpaaren Darmende schließen die beiden Stämme wieder zusammen. Auf der Bauchseite vereinigen sich die Dotterstöcke hinter dem Hoden auf kurze Zeit, um dann noch einmal auseinanderzustreben.

Die vom Körper nur wenig abgesetzte Haftscheibe hat eine Breite von 0,12 mm. Sie trägt 2 Paar große Mittelhaken, je eine dorsale und ventrale Verbindungsklammer und 16 (?) Randhaken. Die Bewegung der Mitelthaken wird ausgelöst durch zwei starke Muskelbündel, die in der Längsrichtung des Körpers verlaufen und im hinteren Abschnitt scharf hervortreten. Die beiden dorsalen Mittelhaken (siehe Fig. 9 und 10) sind 0,1 mm lang und weisen ihre stark gekrümmte angelförmige Spitze schräg nach außen; an der Krümmungsstelle besitzen sie und die ventralen Haken feine chitinöse Bügel, ähnlich wie Ancyrocephalus cruciatus Wedl. Von den basalen verbreiterten Enden gehen einfache, spitz auslaufende Stücke schräg nach unten aufeinander zu; die Bedeutung dieser kleinen Stücke

kann vielleicht darin beruhen, das dorsale, teils spitz, teils stumpf auslaufende Verbindungsstück (Länge 0,035 mm) niederzuhalten. Das ventrale Hakenpaar (Länge 0,042 mm) geht in zwei ungleich lange und ungleich starke Wurzeln aus (siehe Fig. 11). Das in die so gebildete Gabel eingreifende Verbindungsstück setzt sich zusammen aus zwei leicht geschwungenen, etwa im rechten Winkel zusammenstoßenden Teilen (je 0,025 mm lang); dieser ganze ventrale Apparat hat die Gestalt eines M. Die Randhaken haben eine krallenförmige Spitze (Länge 0,016 mm; siehe Fig. 12).

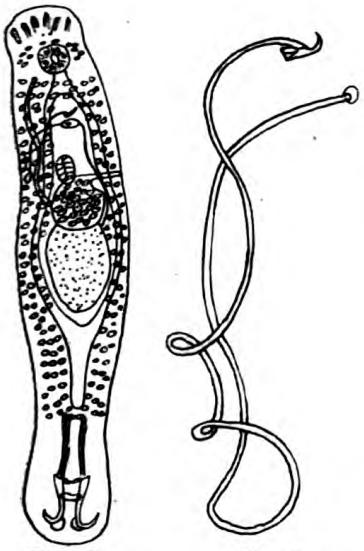


Fig. 7.

Fig. 8.

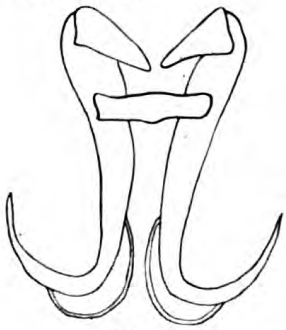


Fig. 9.

Fig. 10.

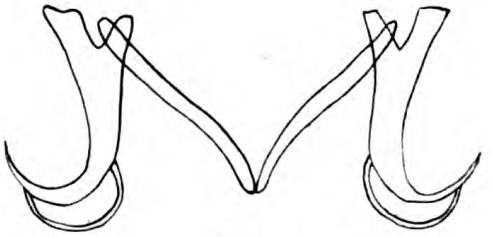


Fig. 11.

Fig. 12.

Fig. 7—12. Ancyrocephalus siluri n. sp.
Fig. 7. Totalzeichnung, von der Dorsalseite. Vergr. ca. 50 × 1.
Fig. 8. Kopulationsorgan. Vergr. ca. 300 × 1.
Fig. 9. Dorsale Mittelhaken der Haftscheibe mit Verbindungsklammer, von oben. Vergr. ca. 860 × 1.
Fig. 10. Dasselbe, von der Seite. Vergr. ca. 430 × 1.
Fig. 11. Ventrale Mittelhaken mit Klammer. Vergr. ca. 650 × 1.
Fig. 12. Randhaken. Vergr. ca. 1050 × 1.

Systematisch steht diese Art sowohl nach der inneren Organisation wie auch nach der Ausbildung des Hakenapparates dem Ancyrocephalus cruciatus Wedl. am nächsten.

Ancyrocephalus spec. n. sp. Im Juli 1922 fand ich auf den Kiemen eines 29 cm langen Seesaiblings (Salmo salvelinus L.) einen Trematoden der Gattung Ancyrocephalus in einem einzigen Individuum.

Die Körperlänge beträgt 3,562 mm; die größte Körperbreite in Höhe des Genitalporus 0,49 mm. Der Körper ist dorso-ventral abgeplattet, der Vorderkörper ist bedeutend breiter als der Hinterkörper, in den er sich allmählich verjüngt. Im Vorderkörper vor der Mundöfffnung liegen zwei Paar Augen in Trapezform mit der Basis nach hinten; die unregelmäßig gestalteten braunen Pigmentflecken sind durch Größe nicht wesentlich verschieden, wie dies bei Ancyrocephalus paradoxus Creplin der Fall ist. Hinter den Augenflecken liegt

die trichterförmige Mundöffnung (Durchmesser 0,025 mm); daran schließt ein kugeliger Pharynx mit starker Muskulatur an (Durchmesser 0,087 mm). Sein innerer Hohlraum ist spaltförmig; zwischen der Pharyngealmuskulatur sind 6 große Drüsen sichtbar, in gleicher Anordnung, wie sie für Ancyrocephalus paradoxus Crepl. von Wegener angegeben ist. Rechts und links vom Pharynx zeigt das Totalpräparat jederseits einen großen mehrzelligen Drüsenkomplex, dessen Ausführungsgänge nach vorn führen und hier jederseits in drei Gruppen am Vorderrand ausmünden, zum Teil diesen vorwölben.

Auch hier wird der Körper durch die Darmschenkel in ein Mittelfeld mit den Geschlechtsorganen und zwei Seitenfelder mit den Dotterstöcken geteilt. Der längsovale Keimstock (Durchmesser: 0,085 zu 0,078 mm) zwischen den Darmschenkeln besitzt eine derbe Faserhaut, die nach Färbung mit Boraxkarmin gelb erscheint. Im vorderen Teil scheinen fertige Eizellen vorhanden zu sein, soweit das einzige Exemplar eine Beobachtung erlaubt. Der Ovidukt geht hier nach links (bei Anc. paradoxus nach rechts), und zwar aus dem mittleren Teil (bei Anc. paradoxus aus dem vorderen), verläuft etwas schräg nach vorn und hat eine Länge von ca. 0,078 mm. Hinter dem Ovarium liegt der Hoden von ovaler Gestalt, etwa doppelt so lang wie der Keimstock. Vor dem Ovar in dem Mittelfeld der beiden Darmschenkel liegen zwei sackförmige Organe, wie sie auch bei Anc. paradoxus bekannt sind. Die Dotterstöcke sind in gleich starker Ausbildung vorhanden, wie bei Anc. paradoxus und lassen nur ein schmales Mittelfeld frei.

Am Hinterkörper sitzt die runde Haftscheibe (Durchmesser 0,135 mm), in die zwei starke Muskelbündel eintreten. Der Klammerapparat enthält 4 große, zentral gelegene Haken (Länge 0,08 mm); alle 4 liegen in einer Höhe; das äußere Paar weist seine Spitze nach außen, das innere zeigt schräg nach außen. Die Gestalt der Haken (siehe Fig. 13) hat gewisse Aehnlichkeit mit den beiden äußeren Haken von Anc. cruciatus; sie besitzen zwei Wurzeln mit ungleichen Fortsätzen und verschmälern sich nach dem sichelförmigen Hakenfortsatz plötzlich. Alle 4 Haken sind von gleicher Gestalt. 14 Randhaken von einer Länge von 0,018 mm sind vorhanden.

Fig. 13. Ancyrocephalus sp. n. sp. Mittelhaken. Vergr. ca. 400×1.

Eine weitere Beobachtung erlaubt das einzige Exemplar nicht. Es scheint eine neue Spezies vorzuliegen, die mit Ancyrocephalus paradoxus Creplin viel Aehnlichkeit zeigt; von einer Benennung möchte ich bei dem Einzelfund absehen.

Allocreadium angusticolle Hausmann. Diesen bis jetzt selten beobachteten Darmtrematoden der Groppe habe ich im gleichen Wirt einmal in 2 Exemplaren gefunden (Dez. 1922). Die Länge des Parasiten betrug ca. 1,125 mm, die größte Breite ca. 0,25 mm. Das Verhältnis des Mundsaugnapfes zum Bauchsaugnapf war: 0,135 zu 0,25 mm (nach Hausmann: 0,09 zu 0,22 mm). Der Durchmesser des kugeligen Pharynx betrug 0,067 mm. Der Hoden war 0,22 mm lang; der Keimstock erreichte eine Länge von 0,13 mm.

Asymphylodora tincae Modeer (= Dist. perlatum Nordm.). Im Darm einer (von drei untersuchten) Schleie (Tinca vulgaris Cuv.) fand ich 4 Individuen dieser Spezies. Ihre Länge beträgt ca. 15 mm, die Breite 0,6 mm. Der Vorderkörper ist sehr beweglich und bis zum Vorderrand des Hodens mit rostfarbenem Pigment durchsetzt; hierin weichen meine Beobachtungen von den früheren Beschreibungen ab, in denen von einem farblosen Körper die Rede ist. Der ganze Körper ist beschuppt. Durchmesser des Mundsaugnapfs: 0,17 mm, des Bauchsaugnapfs: 0,235 mm (nach Lühe: 0,15 zu 0,18 mm). Durchmesser des kugeligen Pharynx 0,07 mm. Nach einem relativ langen Oesophagus teilt sich der Darm kurz vor dem Bauchsaugnapf; Länge der Darmschenkel 0,225 mm. Der Hoden ist längsoval (0,3 zu 0,12 mm; nach Lühe: 0,15 zu 0,08 mm). Der seitlich davor gelegene Keimstock ist 0,2 mm lang und 0,01 mm breit. Der langgestreckte Cirrus und die Vagina sind ganz bestachelt. Die eiförmigen Eier (0,031 zu 0,014 mm; nach Lühe: 0,023 zu 0,027 mm) haben einen kleinen aufgesetzten Deckel und ein kleines deutliches Knötchen am Hinterende; im Beginn des Uterus sind sie farblos; die fertigen Eier haben eine braunrote Farbe. Trotz der mancherlei Abweichungen, die zu Asymphylodora ferruginosa v. Linst. hinweisen, möchte ich diese Form doch zu Asym. tincae rechnen.

Asymphylodora ferruginosa v. Linstow. Im Darm der nämlichen Schleie war mit den eben beschriebenen Parasiten ein Trematode folgender Beschreibung anwesend: Länge 1 mm; größte Breite 0,43 mm (nach Linstow: 1,25 und 0,52 mm). Der Vorderkörper ist sehr beweglich und kann zu einem langen Hals vorgestreckt werden; der Körper ist in seiner ganzen Ausdehnung bestachelt, ebenso Cirrus und Vagina. Ueber den ganzen Körper sind rostfarbene Pigmentflecke ausgestreut, so daß er gelbrot erscheint. Größenverhältnis von Mund- und Bauchsaugnapf: 0,15 zu 0,2 mm. Der kugelige Pharynx verlängert sich zum ziemlich langen Oesophagus. Die beiden Darmschenkel sind nur kurz. Die schwach entwickelten doldenförmigen Dotterstöcke jederseits sind durch eine Brücke verbunden. Der wurstförmige Hoden ist im Hinterende gelegen, davor der nur halb so große Keimstock. Der Uterus, der in einem Doppelrohr dem Hinterende folgt, ist dicht mit Eiern gefüllt, die in seinem Anfangsteil ganz farblos und durchsichtig, im Endabschnitt aber braunrot sind. Diese sind ei- bis birnenförmig (0,035 zu 0,0157 mm). Die Einreihung in die Spezies ferruginosa erscheint mir auch deshalb geboten, weil die Eier den aufgesetzten hutförmigen Deckel und das hakenförmige Filament am Hinterende tragen, beides typische Merkmale für Asymphylodora ferruginosa v. Linstow.

Phyllodistomum folium v. Olf. Unter 4 untersuchten Haseln (Leuciscus leuciscus L.) und 20 Röteln (Leuciscus rutilus L.) hatte je ein Tier diesen Trematoden in seiner Harnblase (1mal 14, das andere Mal 33 Individuen); beim Rötel saßen die Tiere zum Teil auch in den Harngängen. Die Länge des Parasiten betrug bis 1,4 mm, die Breite des blattartig verbreiterten Hinterkörpers 0,43 mm, die Breite des Vorderkörpers 0,3 mm. Das Größenverhältnis von Mund- und Bauchsaugnapf schwankt zwischen 0,185:0,25 mm und 0,112:0,247 mm. Der Hinterkörper ist abgerundet, nicht zugespitzt. Die Darmgabelung liegt meist vor, zum Teil in der Mitte zwischen Mund- und Bauchsaugnapf. Die Hoden liegen schräg hinter-

einander, sind langgestreckt und wenig gelappt (Länge bis 0,15 mm). Die fertigen Eier erreichen eine Größe von 0,058—0,06:0,031 bis 0,035 mm.

Beim Vergleich meiner Beobachtungen mit den früheren Angaben über diesen Trematoden ergibt sich, daß die im Vorstehenden beschriebene Form in vielen Punkten eine Zwischenstellung zwischen Phyllodistomum folium v. Olf. und Catoptroides macrocotyle Lühe einnimmt, die Lühe als selbständige Spezies von ersterer abgetrennt hat, und die bisher nur aus Warschau bekannt war (in Cypriniden). Eine klare systematische Entscheidung der Frage, in welchem Verhältnis die beiden Arten stehen, ist auf Grund meiner beiden Funde nicht möglich. Hinzufügen möchte ich noch, daß einige Individuen mit dorsal eingerolltem Hinterkörper in den Harngängen vorkamen, wie es für Catoptroides macrocotyle angegeben wird, wie überhaupt die biologischen Momente für diese letztere Spezies sprechen.

Distomum annuligerum v. Nordmann. Diesen selten beobachteten Trematoden fand ich ein einziges Mal in der Augenflüssigkeit eines Barsches (Perca fluviatilis L., Mai 1922); in dem Glaskörper des gleichen Wirts war Tylodelphys clavata v. N. zahlreich, Diplostomum volvens v. N. vereinzelt vertreten. Die Bestimmung gelang mir nur auf Grund der v. Nordmannschen Abbildung; die Angaben hierzu sind zu spärlich. Distomum annuligerum bewegte sich frei in der Flüssigkeit; nach v. Noordmann kommt es in Cysten im Glaskörper vor, kriecht aber selbst in Augen, die langsam in Fäulnis übergehen, aus. Auf den vorhergehenden Einschluß in einer Cyste weist bei meinem Exemplar die halsartige Einschnürung des Körpers hinter dem Mundsaugnapf hin, auf die auch v. Nordmann bei dem encystierten Tier aufmerksam macht, eine Erscheinung, die auch bei andern encystierten Trematodenlarven auffällt (z. B. Tetracotyle percae fluviatilis, Tetracotyle ovata) und vermutlich in Zusammenhang steht mit der durch die Lage in der Cyste bedingten Umbiegung des Körpers an dieser Stelle.

Die Länge unseres Parasiten beträgt ca. 1 mm (nach v. Nordmann Länge der Cyste ca. 0,5 mm), die Breite 0,43 mm. Der Durchmesser des Mundsaugnapfs beträgt 0,09 mm; der Bauchsaugnapf ist mehr dem Hinterende genähert und hat einen Durchmesser von 0,11 mm, ist also etwas größer als der Mundsaugnapf. Das Vorderende ist abgeflacht, das Hinterende abgerundet. Auf den Mundsaugnapf folgt ein kleiner Pharynx; nach einem unpaaren Darmstück etwa von der Länge des Mundsaugnapfs teilt sich der Darm; die beiden Darmschenkel verlaufen bis nahe ans Hinterende. Eine eingehendere Beoobachtung verhinderte das rasche Absterben des Trematoden.

Diplostomum volvens v. Nordmann. Die Verbreitung dieses Augentrematoden bei den Boodenseefischen ist eine sehr große. Von den zur Untersuchung gekommenen 26 Fischarten beherbergen 21 Spezies diese Larve im Auge, d. h. 81 Proz. aller Fischspezies. Von der Gesamtzahl aller untersuchten Fische (ohne Berücksichtigung der Spezies) waren 75 Proz. von diesem Schmarotzer befallen. Mit diesen Zahlen steht die Holostomiden-Larve ihrer Verbreitung nach an 1. Stelle aller Fischparasiten im Bodensee.

Diplostomum volvens ist schon Studium eingehender ana-

tomischer Untersuchungen gewesen. Dabei hat v. Nordmann einen kleinen Mundsaugnapf und etwa doppelt so großen Bauchsaugnapf angegeben und abgebildet; Lühe folgt ihm darin nach, während nach Fraipont und Claparède ein größerer Mundsaugnapf einem kleineren Bauchsaugnapf gegenübersteht. Die Frage wirft sich hier auf, ob es sich hier um die Larven verschiedener Holostomiden handelt. Aus meinen zahlreichen Untersuchungen an lebenden Tieren ergibt sich, daß das Größenverhältnis der beiden Saugnäpfe kein konstantes ist; die beiden extremen Verhältnisse (Mundsaugnapf 0,03 mm, Bauchsaugnapf 0,049 mm bei Diplostomum volvens in Coregonus macrophthalmus Nüßl.; und: Mundsaugnapf 0,031 mm, Bauchsaugnapf 0,015 mm bei Blicca bjoerkna L.) sind durch zahlreiche Uebergänge miteinander verbunden. Weiter zeigt sich, daß das Größenverhältnis: großer Mundsaugnapf zu kleinem Bauchsaugnapf — nur bei den Jugendformen von Diplostomum volvens vorhanden ist, die durch schmalen, langgestreckten, fast drehrunden Körpr und das Fehlen der großen, für die ausgewachsenen Larven charakteristischen Kalkkörperchen gekennzeichnet sind. Andere anatomische Verschiedenheiten konnte ich nicht feststellen. So scheint die Annahme berechtigt, daß es sich bei allen diesen Formen nur um eine Spezies handelt; dabei zeigt die Jugendform von Diplostomum volvens zunächst einen größeren Mundsaugnapf mit kleinerem Bauchsaugnapf; im Laufe der Entwicklung kehrt sich das Verhältnis langsam um. Es fehlen zwar analoge Beobachtungen hierzu; aber ausgeschlossen scheint mir diese Verschiebung der Verhältnisse nicht, besonders nach den Ergebnissen von Lutz, wonach wahrscheinlich allen Holostomiden ein Cerkarienstadium zukommt, wir also vermutlich im jugendlichen Stadium von Dipl. volvens eine in der Umwandlung begriffene Cerkarie vor uns haben könnten. Sicherheit kann in diese Frage nur durch experimentelle Entwicklungsversuche gebracht werden.

Etwas abweichend von der Darstellung des Exkretionssystems, die Claparède gegeben hat, fand ich einmal bei einer Form, die sonst keine anatomischen Unterschiede zeigte, in der hinteren Körperhälfte neben den beiden Seitenstämmen ein schwächeres Gefäß, das in die Exkretionsblase einmündet; es verläuft zwischen den zwei Hauptstämmen, geht bei ihrer Vereinigung über ihre Kommissur in Höhe des Bauchsaugnapfes hinweg und zieht als schwächerer 2. Stamm durch den Vorderkörper, wo es aus der Ringkommissur um Mundsaugnapf und Pharynx entspringt.

Als Aufenthaltsort wurden festgestellt die Linse, wo die Larven sich unter der Kapsel aufhalten, dagegen nie im Kern beobachtet wurden; ferner die Augenflüssigkeit und der Glaskörper; in der Hornhaut habe ich sie nie gefunden. Sehr zahlreich kommt Diplostomum volvens vergesellschaftet vor mit Tylodelphys clavata, fast regelmäßig bei Perca fluviatilis L., Abramis brama L., Squalius cephalus L., Leuciscus rutilus L., L. leuciscus L. und Esox lucius L.; dabei treten meist einige bis viele Individuen von Diplostomum volvens neben zahlreichen Tylodelphys clavata auf. Die Zahl der in 1 Auge schmarotzenden Diplostomum-Larven kann eine sehr große sein, wie schon v. Nordmann erwähnt.

Die Entwicklungsgeschichte dieses Trematoden ist noch nicht völlig geklärt. Zwar ist es den Brüdern Ehrhardt (nach Braun) ge-

glückt, durch Fütterungsversuche von Diplostomum volvens an Wasservögel Hemistomum spathaceum Rud. als Geschlechtsform klarzustellen, und die später von Mataré dagegen erhobenen Bedenken wegen der Unsicherheit der Spezies Hemist. spathaceum hat Krause widerlegt (1915). Als Wirt dieser Geschlechtsform ist eine Reihe von Wasservögeln bekannt, darunter die Möve. Die Uebertragung der Larve in den Hauptwirt kann möglicherweise auf 2 Arten erfolgen. Nach Untersuchungen von Hofer u. a., die auch Salzer (1907) bestätigt, tritt gelegentlich Exophthalmus mit Austritt der Linse auf, so daß dadurch die Larven ins Freie kommen und so ihren Endwirt erreichen können. Meine eigenen Ergebnisse sprechen dafür, daß diese krankhafte Oeffnung des Fischauges im Bodensee doch nur recht selten vorkommt, so daß sie jedenfalls für die Uebertragung der Holostomiden-Larve keine große Rolle spielt. Es bleibt vorläufig nur die Annahme, daß die Möve und andere Wirte in der Hauptsache durch Fraß der von Larven befallenen Fische sich selbst infizieren. Die Weiterentwicklung des Eies zur Diplostomum-Larve ist noch ungeklärt. Nach der bisherigen Ansicht liegt eine direkte Entwicklung ohne Partheniten vor; nach Roth soll das Miracidium vom Darm aus in die Fischaugen einwandern. Auch die Wahrnehmung Salzers, die ich in zahlreichen Fällen bestätigt fand, wonach sich die Larven vielfach in der Campanula Halleri (hier meist mit Tylodelphys clavata v. N.) ganz in der Nähe der Blutgefäße vorfinden, spricht für die Möglichkeit der Einwanderung vom Darm aus durch die Blutbahnen; zwingend ist dieser Schluß jedoch nicht.

Die oben schon berührten Untersuchungen von Lutz rücken das Problem in ein ganz neues Licht; nach ihm kann angenommen werden, daß alle Holostomiden ein Cerkarienstadium durchlaufen. Die mit einem Bohrstachel versehene Cerkarie von Diplostomum volvens könnte dann auch durch die Hornhaut von außen in das Auge eindringen; auch hier muß das Experiment Klarheit schaffen.

Irgendeine Periodizität im jahreszeitlichen Auftreten dieser Trematoden-Larve, auch der Jugendform, konnte nicht beobachtet werden. Ueber die geographische Verbreitung von Diplostomum volvens herrscht noch Unklarheit. Voigt hat ihr häufiges Vorkommen in den Holsteinschen Seen festgestellt; Zschokke berichtet von einer einzigen Beobachtung bei Leuciscus rutilus L. im Genfer See; im Vierwaldstättersee fand Nufer die Larve nicht; für den Züricher See liegen Untersuchungen von Fehlmann an Trüschen (Lota vulgaris Cuv.) vor, deren Augen alle stark infiziert waren. Dieser letztere Befund läßt mir die negativen Ergebnisse an den anderen Schweizer Seen als einer Nachprüfung bedürftig erscheinen; denn, wenn die Möve als Wirt auftritt, so liegt die Möglichkeit vor, daß sich das Verbreitungsgebiet von Diplostomum volvens mit demjenigen der Möve in Süßwasserseen einigermaßen deckt.

Diplostomum brevicaudatum v. Nordmann (?). Im Glaskörper einer Trüsche (Lota vulgaris Cuv.) waren einige Trematoden anwesend (November), die ich mit ziemlicher Wahrscheinlichkeit als Diplostomum brevicaudatum bestimmte; in der Linse des gleichen Auges war Diplostomum volvens zahlreich vertreten. Leider starben die wenigen Individuen so rasch ab, daß ich nur flüchtige Beobachtungen über diesen anscheinend seltenen und angezweifelten Parasiten mitteilen kann.

Seine Länge beträgt ca. 1 mm (nach v. Nordmann 0,7 mm), die Breite ca. 0,09 mm. Eine scharfe Trennung zwischen dem Vorder- und Hinterkörper ist vorhanden. Ersterer ist stark beweglich und streckbar, nimmt bei Kontraktion herzförmige Gestalt an und überragt an Länge den Hinterkörper um ein Bedeutendes. Vorder- und Hinterkörper sind fast drehrund, unterscheiden sich darin wesentlich von den Angaben von v. Nordmann. Eine recht- bis stumpfwinklige Einknickung der beiden Körperteile gegeneinander, wie sie für ausgewachsene Holostomiden vielfach typisch ist, ist hier nicht vorhanden. Der Darm beginnt mit einem langgezogenen Mundsaugnapf mit kleiner Mundöffnung (Länge 0,05 mm), der vorn eine Breite von 0,025 mm besitzt und sich nach hinten wesentlich verschmälert; ich glaube darin mit den Beobachtungen von v. Nordmann übereinzustimmen, wenn er auch von „einem vorn breiten, hinten mehr verengten Schlundkopf" redet. Darauf folgt der kugelige Pharynx (Durchmesser 0,025 mm); der ziemlich schmale Oesophagus ist 0,02 mm lang. Die beiden Darmschenkel ziehen bis nahe an den Hinterrand des Körpers; auffällig ist ein scharfer, nach außen gerichteter Knick der Darmschenkel an der Stelle, an der der verschmälerte Vorderkörper in den Hinterkörper übergeht; v. Nordmann berichtet ebenfalls von einer kleinen Krümmung der Darmschenkel, bevor sie in den Hinterleib eintreten. Etwas vor der Darmkrümmung, aber hinter der Darmgabelung gelegen ist der runde Bauchsaugnapf (Durchmesser 0,031 mm), der wenig über die Bauchseite hervorragt; v. Nordmann spricht von „einem kleinen Porus, der unmittelbar dicht an der Stelle liegt, wo der Darmkanal sich teilt"; darin liegt also eine Abweichung. — Das hintere Haftorgan konnte ich nicht feststellen; auch v. Nordmann berichtet mit keinem Wort davon. Das abgerundete Hinterende zeigt eine leichte Einbuchtung, in welche eine Y-förmige (?) Exkretionsblase einmündet.

Diplostomum cuticula v. Nordmann. Haut, Flossen und Kiemenschenkel von jungen Röteln (Leuciscus rutilus L.) waren im Sommer 1923 mit zahlreichen schwarzen, sehr charakteristischen Cysten dieser Trematodenlarve besetzt. Die Beobachtungen sind die gleichen, wie sie v. Nordmann, Hofer u. a. berichten. Die Jungfische stammten aus der Untersee; nach Berichten von Herren, die mir die Fische zur Verfügung stellten, scheint im Untersee diese Erkrankung stellenweise sehr häufig aufzutreten; im Obersee und Ueberlingersee ist sie mir nie begegnet.

Diplostomum cobitidis v. Linstow. Diese bis jetzt aus Cobitis barbatula L. bekannte Trematodenlarve kommt im Bodensee auch in diesem Wirt vor; vor allem ist sie ein typischer Parasit der Groppe (Cottus gobio L.). Bei letztgenanntem Wirt sitzen die Cysten in ziemlich allen Körperhöhlen; in der Augenhöhle, der Schädelhöhle, in der Kiemenhöhle, und zwar hier an den Kiemenbögen habe ich zahlreiche Cysten beobachtet; ebenso ist die Rumpfmuskulatur, hauptsächlich Bauchmuskulatur bis zur Schwanzflosse, durchsetzt von vielen Cysten. Ganz regelmäßig aber bei allen untersuchten Groppen zeigt das Peritoneum ganze Herde von Cysten. Während bei der Infektion der übrigen Körperhöhlen keine offensichtliche schwere Schädigung der befallenen Fische in Erscheinung tritt, hat das Einwandern der Larven ins Peritoneum immer eine, teilweise sehr starke, Peritonitis zur Folge mit Blutergüssen und Ausscheidung von blutigem Exsudat.

Einmal ist auch im Glaskörper des Auges neben 30 Exemplaren von Diplostomum volvens eine Cyste unseres Trematoden anwesend. Bei Cobitis barbatula ist der Sitz der Cyste das Peritoneum.

Die Stärke der Infektion ist meist eine bedeutende; meist beherbergt ein Wirt über 30 Schmarotzer; doch treten auch 100 und mehr Larven in einer Groppe auf.

Die Größe der eiförmigen Cysten schwankt zwischen 0,687:0,5 und 1:0,75 mm. Die Wand der Cysten wird von einer derben, zähen, geschichteten Haut von 0,065—0,112 mm Dicke gebildet. Das Herauspräparieren der Tiere aus der harten Wandung gelingt ohne Verletzung nicht leicht. Einige Male treten im Darmschleim bei Untersuchung nach Darmparasiten freie Larven von Diplostomum cobitidis auf bei Groppen, deren Darmwand von zahlreichen Cysten durchsetzt ist; ich führe das Freiwerden der Larven auf die Einwirkung des Darmsaftes zurück, dem sie längere Zeit ausgesetzt waren.

Die Länge des freien Trematoden schwankt zwischen 0,712 und 1,395 mm. Der Körper weist eine deutliche Sonderung in einen großen beweglichen, im vorderen Abschnitt halsartig vorstreckbaren Vorderkörper und einen zapfenförmigen Hinterkörper auf. Vorder- und Hinterkörper sind scharf voneinander abgesetzt und durch einen breiten ventralen Wulst am Vorderkörper geschieden, ähnlich wie bei Diplostomum volvens. Das Verhältnis der Länge von Vorder- und Hinterkörper beträgt bei einer Gesamtlänge von 0,712 mm: 0,56 zu 0,15 mm; bei Gesamtlänge 1,395: 1,187 zu 0,208 mm. Der in Ruhe blattartig verbreiterte Vorderkörper kann sich fast zur Kugelform kontrahieren. Durch die Anwesenheit von zahlreichen dunklen Körperchen (Kalkkörperchen?) im ganzen Körper (Länge bis 0,015 mm) ist das Körperinnere dunkel; dadurch ist die Untersuchung, besonders die Auffindung des Bauchsaugnapfes erschwert; vielleicht ist auf diesen Umstand das Uebersehen dieses Organs durch v. Linstow zu erklären. An der Stirnfläche liegt der kreisrunde Mundsaugnapf (Durchmesser 0,065—0,09 mm), an den sich ein kurzer, ovaler Pharynx anschließt (Durchmesser 0,014:0,01 mm). Nach kurzem Oesophagus teilt sich der Darm; die beiden Darmschenkel sind bis nahe an den Hinterrand des zapfenförmigen Hinterkörpers zu erkennen. Ungefähr in der Körpermitte oder etwas davor liegt der kreisrunde Bauchsaugnapf mit annähernd gleich großem Durchmesser (Größenverhältnis von Mund- und Bauchsaugnapf 0,09:0,087 mm). Im letzten Körperdrittel erscheint getrennt vom Bauchsaugnapf das hintere Haftorgan mit über doppelt so großem bis fast dreifachem Durchmesser (0,225 mm). Zu beiden Seiten des Mundsaugnapfs liegen zwei nur leicht vorgewölbte runde Drüsengruppen, die etwas kleiner bis höchstens so groß wie der Mundsaugnapf sind. Folgen wir der von Lühe beibehaltenen Einteilung der Holostomiden-Larven, so wäre diese Larve auf Grund dieser Drüsengruben in die Untergruppe Tetracotyle einzureihen. Der breite kurze Hinterkörper verjüngt sich stark nach hinten (Länge 0,15—0,18 mm, obere Breite 0,21—0,25 mm). Im Hinterkörper liegt die langgestreckte Exkretionsblase.

Diplostomum (?) spec. Im Glaskörper des Auges eines Sandfelchen (Coregonus fera Jur.) traf ich neben einem Tylodelphys clavata eine Trematodenlarve folgender Beschreibung: Der Körper hat eine Länge von 0,36 mm in Ruhe bis 0,405 mm (in gestrecktem Zustand); die Breite beträgt 0,11 mm (in Ruhe). Die Farbe des

lebenden Tieres ist schmutzig-graubraun. Eine deutliche und scharfe Sonderung in Vorder- und Hinterkörper wie bei den erwachsenen Holostomiden und den meisten ihrer Larven ist vorhanden; dabei sind beide Teile ungefähr gleich lang. Der Vorderkörper ist weit beweglicher als der Hinterkörper und erscheint deshalb in gestrecktem Zustand etwas länger wie dieser, von welchem er scharf abgesetzt ist (siehe Fig. 14). In ruhendem Zustand hat er die Gestalt von Diplostomum volvens, wobei die beiden Drüsenmündungen seitlich des Mundsaugnapfs stark hervortreten; nach hinten ist der Vorderkörper abgerundet und steht mit dem Hinterkörper durch eine relativ schmale Brücke in Verbindung, ähnlich wie bei den erwachsenen Holostomiden. Der Hinterkörper ist in Ruhe fast kugelförmig, gestreckt verbreitert er sich birnförmig nach hinten.

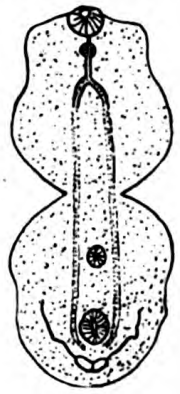


Fig. 14. Diplostomum (?) sp. Im Glaskörper v. Coregonus fera Jur. Vergr. ca. 120×1.

Der Bauchsaugnapf liegt im ersten Drittel des Hinterkörpers. Hinter der Mitte des Hinterkörpers erscheint ein hinterer Haftapparat wesentlich größer wie der Bauchsaugnapf; Durchmesser des Mundsaugnapfs 0,04 mm, des Bauchsaugnapfs 0,022 mm, des hinteren Haftapparats 0,031 mm. An den Mundsaugnapf schließt sich ein kugeliger Pharynx (mit ungefährem Durchmesser des Bauchsaugnapfs) an. Die Darmgabelung erfolgt etwas vor der Mitte des Vorderkörpers; die beiden Darmschenkel endigen unmittelbar hinter dem hinteren Haftorgan vor der Exkretionsblase. Das Exkretionssystem scheint nach meinen spärlichen Beobachtungen ähnlich wie bei Diplostomum volvens orientiert zu sein. Die Blase ist Y-förmig und empfängt jederseits zwei Längsstämme. Weitere Beobachtungen waren an dem einzigen, bald sterbenden Individuum nicht möglich.

Ueber die systematische Stellung dieser Larve habe ich keine Klarheit gewonnen. Die scharfe Sonderung in Vorder- und Hinterkörper würde für eine in der Weiterentwicklung begriffene Holostomidenlarve (vielleicht Strigea) sprechen; dagegen spricht die eigentümliche Lage des Bauchsaugnapfs im Hinterkörper. Vielleicht gehört unsere Larve in die Nähe von Tetracotyle colubri, bei welcher in Höhe des Bauchsaugnapfs eine ringförmige Einschnürung verläuft; doch die beiden „ohrenförmigen Zipfel“ machen dabei Schwierigkeiten.

Tylodelphys clavata v. Nordmann. Dieser häufige Begleiter von Diplostomum volvens in den Augen steht hinter diesem an Vorkommen in den verschiedenen Fischspezies wesentlich zurück. 63 Proz. der untersuchten Arten beherbergen die Larve. Doch scheint ähnlich wie bei Diplostomum volvens die Wahrscheinlichkeit zu bestehen, daß bei bisher frei befundenen Spezies bei späteren Untersuchungen gelegentlich Tylodelphys clavata auftreten wird; das scheint aus der ziemlich gleichmäßigen Verbreitung von Einzelindividuen unter den Fischen mit ganz ungleichmäßigen Lebensbedingungen hervorzugehen. Betrachten wir die Gesamtheit aller untersuchten Fische ohne Rücksicht auf die Art, so sind 53 Proz. aller Tiere infiziert. Immer oder fast regelmäßig erscheint Tylodelphys clavata im Kretzer (Perca fluviatilis L.), Brachsen (Abramis brama L.),

Barbe (Barbus fluviatilis Agass.), Alet (Squalius cephalus L.), Hasel (Leuciscus leuciscus L.), Rötel (Leuciscus rutilus L.) und Hecht (Esox lucius L.). Es sind dies alles teils Dauerbewohner der Halde, teils gehen sie zum Laichen dorthin. Anscheinend nur selten tritt der Parasit bei den Coregonen und dem Saibling (Salmo salvelinus L.) auf; eigenartig ist, daß bei der Laube (Alburnus lucidus L.) der Trematode zu den vereinzelt auftretenden Schmarotzern gehört.

In den regelmäßigen Wirten tritt die Larve eigentlich immer häufig auf; sehr oft kommen 100 und mehr Exemplare in einem Auge vor, hier immer in ganzen Nestern zusammengeballt. Der Hauptsitz und der Sitz der größeren Massen ist der Glaskörper; weniger häufig und dann immer in geringerer Zahl erscheinen sie in der Linse, hier jedoch nie im Kern. Wenn ein Auge von Augenparasiten stark besetzt ist, so ist Tylodelphys immer in größerer Anzahl vorhanden gegenüber Diplostomum volvens; dasselbe hat Voigt in den Plöner Gewässern festgestellt. Im Glaskörper sitzen die Larven vielfach in der blutgefäßreichen Campanula Halleri.

Tetracotyle ovata v. Linstow. Unter dem Peritoneum der Elritze (Phoxinus laevis L.) fanden sich mehrere Cysten dieser Larve, die mit den gegebenen Beschreibungen übereinstimmen.

Tetracotyle perca fluviatilis v. Linstow. Diese Art gehört zu den typischen Schmarotzern des Kretzers (Perca fluviatilis L.); 60 Proz. aller Fische waren infiziert. Sie bewohnt vornehmlich das Peritoneum, wo sie in Herden von 12 und mehr Cysten auftritt und meist eine starke Peritonitis zur Folge hat. Daneben finden sich Cysten vereinzelt auch in der Augenmuskulatur, im Fettpolster des Auges, in der Chorioidea (? zweifelhaft), an den Kiemenbögen, in der Schwimmblasenwand und im Fettkörper des Darms. Die Größe der Cysten in einem Nest kann sehr verschieden sein (0,37—1 mm). Die Zahl der Cysten in einem Wirt kann bis 60 betragen. Den früheren Beschreibungen habe ich nichts hinzuzufügen.

Cestoden.

Ichthyotaenia osculata Goeze. Dieser bis jetzt nicht häufig gefundene Cestode aus dem Darme des Wels (Silurus glanis L.) wurde 1782 von Goeze zuerst beschrieben und abgebildet unter dem Namen „der gemündete Bandwurm", weil er an dem vorstehenden Rüssel eine wahre Mündung hat, womit der scheitelständige Saugnapf gemeint ist.

Die Literatur über diesen Parasiten ist spärlich; Batsch, Schrank und Rudolphi, dann weiter Dujardin und besonders G. R. Wagener (1849 und 1852 mit Abbildungen), endlich Diesing und v. Linstow haben sich mit ihm befaßt.

Im Darm eines männlichen Silurus glanis L. fanden sich acht Individuen von Ichthyotaenia osculata in verschiedener Länge (16. 5. 1923). Die größte Länge beträgt ca. 13 cm bei einer größten Breite von ca. 2,5 mm; bei einer Länge von 3 cm beträgt die Breite 1,125 mm. Ein kleines Exemplar war 5,5 mm lang und 0,15 mm breit; Lühe gibt als Maße bis 1 m Länge bei einer größten Breite von ca. 3 mm an.

Der Skolex ist relativ groß; seine Breite ist ca. 0,4—0,5 mm. An der Seite trägt er 4 große kreisrunde Saugnäpfe, deren Ränder

sich fast berühren, wie es Goeze richtig dargestellt hat (Tafel 34, Fig. 9 und 14). Die äußeren Durchmesser der Saugnäpfe erreichen 0,2 mm, der innere Durchmesser 0,15 mm bei einer Gesamtlänge von 13 cm; dagegen die gleichen Verhältnisse 0,175 und 0,115 mm bei 3 cm Gesamtlänge. Die Spitze des Skolex ist mit einem scheitelständigen Saugnapf versehen, auf dessen Histologie hier nicht eingegangen werden soll; sein äußerer Durchmesser (bei 13 cm Gesamtlänge) beträgt 0,14 mm, der innere 0,105 mm; bei 3 cm Gesamtlänge: 0,115 und 0,07 mm. Auf dem Boden dieses scheitelständigen Saugnapfs fand ich nur einmal einen Haken mit einer Länge von 0,008 mm (nach v. Linstow 0,0071 mm). Nach Wagener und A. fallen diese Häkchen leicht ab, kommen außerdem bei jungen Tieren nicht vor; auf diese beiden Umstände führe ich es zurück, daß ich sie sonst weder bei den lebenden Tieren noch an Präparaten oder Schnitten beobachtet habe. Der Scheitel des Skolex ragt in Ruhe nicht stark hervor; bei stärkerer Streckung erscheint er wie ein langer konischer Zapfen, der tastend herumfühlt. Der Hals, der etwa eine Länge von 2,5—3 mm besitzt (bei Gesamtlänge 3 cm), wirkt bei starker Streckung scharf gegen den Skoelx abgesetzt und wesentlich dünner, bei Kontraktion ist die Grenze zwischen den beiden Teilen undeutlich und die Breite nicht wesentlich verschieden. Die jungen Proglottiden sind breite Bänder mit ganz geringer Höhe; mit zunehmender Reife gehen sie in quadratische Glieder über, um endlich als älteste Glieder eine etwas größere Länge wie Breite zu besitzen. Das zeigen folgende Messungen: Gesamtlänge ca. 13 cm; Halslänge ca. 2—3 mm, Halsbreite 0,375 mm. Erste Proglottiden sind 0,062 mm lang und 0,46 mm breit; Proglottiden etwa am Ende des ersten Körperviertels haben 0,875 mm Breite und 0,31 mm Länge; Proglottiden etwa am Ende des zweiten Körperdrittels sind 1,125 mm breit und 0,86 mm lang; Glieder vor dem Ende haben 1,375 mm Breite und 1 mm Länge; letztes Glied ist hinten stark abgerundet: Länge 1,5 mm, Breite 1,375 mm.

Das vordere Glied greift mit seinem etwas breiteren Hinterrand über das folgende mit schmälerem Vorderrand ganz wenig über, so daß der Eindruck einer leichten Zähnelung der Strobila entsteht. Das letzte Glied trägt eine leichte Einbuchtung am Hinterrand.

Die lebenden Proglottiden weisen eine Reihe von Querrunzeln auf. auf die schon Goeze aufmerksam macht, die aber nur oberflächlich sind und mit den Grenzen der Glieder nicht zusammenfallen.

Zwei Nervenstränge verlaufen durch die Strobila; ihr Querschnitt ist rund.

Exkretionssystem: Wir haben 4 Längsgefäße; dabei verlaufen die stärkeren ventralen Gefäße in zahlreichen Windungen, die dorsalen, weit schwächeren Gefäße haben fast geraden Verlauf. Daneben erscheint gelegentlich ein schwaches drittes, mehr randständiges Gefäß. Im Skolex treten die Längsstämme zu einem Körbchen zusammen und umspinnen die Saugnäpfe eng. Im Hals und in den Gliedern gehen häufig Quergänge von den Längsgefäßen ab, die die Cuticula durchsetzen und nach außen münden. In den entwickelten Gliedern sind mehr am Hinterrand Queranastomosen vorhanden; ihnen gegenüber gehen die peripheren Ausführungsgänge ab. Im Bereiche des Halses sind Queranastomosen nicht selten, ohne bestimmte Anordnung. Im Zusammenhang mit den feinsten Ausläufern der Wassergefäße treten

Kalkkörperchen auf, die im Skolex und Hals in großer Menge vorhanden sind, in den Gliedern spärlicher werden und sich hier auf die Gegend der Längsgefäße beschränken. Treten Kalkkörperchen in der Strobila im Zwischenfeld der Längsstämme auf, so können überall neue Queranastomosen nachgewiesen werden. Diese Körperchen sind teils geschichtet, meist ungeschichtet, von unregelmäßiger, meist länglicher Gestalt; ihre größte Länge beträgt 0,02 mm. — Bei einer Ichthyotaenia von 5,5 mm Länge trägt das letzte sich nach hinten verschmälernde Glied einen kleinen zapfenförmigen Fortsatz; in diesen treten die 4 Längsstämme ein und münden einzeln für sich nach außen, wobei ihre Mündungen sehr genähert sind und eine Exkretionsblase vortäuschen. Es liegt hier zweifellos der Uebergang vom Pleurocerkoid zur Strobila vor. In den schon vorhandenen Gliedern ist die Anlage der Queranastomosen schon zu erkennen, ohne vollständig zu sein; auch die nach außen führenden Exkretionsröhren sind angedeutet, aber noch nicht in Tätigkeit.

Geschlechtsorgane: Die Genitalöffnung liegt randständig etwas vor der Mitte des Gliedrandes; eine leichte Einsenkung, eine Art Sinus genitalis, leitet zu der Oeffnung hin. Die Lage alterniert zwischen rechts und links; doch ist eine gewisse einseitige Orientierung unverkennbar; bei 22 noch nicht geschlechtsreifen Proglottiden liegt die Mündung 14mal rechts, 8mal links. — Vagina und Cirrus münden nebeneinander oder die Vagina etwas vor dem Cirrusbeutel.

Männlicher Apparat: Die Hodenbläschen bedecken den ganzen Raum zwischen den beiden seitlichen Dotterstöcken; ihre Zahl in einem reifen Glied beträgt ca. 50—60 (?); sie sind länglich-eiförmig mit ihrer Längsachse quer zur Längsachse der Glieder orientiert (Durchmesser ca. 0,7:0,5 mm). Neben den Samenzellen liegen die Samenfäden meist in Ballen zusammen. Ein kompliziertes System der Vasa efferentia leitet zum Vas deferens; dieses führt in einem stark aufgewundenen horizontalen oder etwas schräg nach außen geneigten Knäuel von der Mitte des Gliedes zum Rand und ist mit Sperma strotzend angefüllt. Am hinteren Ende des Cirrusbeutels tritt das Vas deferens ein und bildet innerhalb desselben noch einige kleine Schlingen, um sich dann als relativ schmaler Gang geradlinig bis zum Sinus genitalis fortzusetzen.

Der Cirrusbeutel erreicht eine Länge von ca. 0,18 mm und ist etwa 0,125 mm breit; seine Wandung besteht aus einer stark ausgebildeten Muskulatur von schräg verlaufenden Muskelfasern.

Weiblicher Apparat: Die Mündung der Vagina liegt meist neben, gelegentlich vor der Mündung des Cirrusbeutels am Grunde des flachen Genitalsinus. Die Vagina verläuft als enges Rohr zunächst über dem Cirrusbeutel nach der Mitte zu; ein Sphincter fehlt, ebenso ist eine blasenförmige, als Receptaculum seminis zu deutende Anschwellung des Anfangsteils nicht vorhanden. Hinter dem Cirrusbeutel ist eine leichte Verbreiterung zu beobachten, die möglicherweise diesem Zweck dient; konstant scheint sie aber nicht zu sein. — Nach einem kleinen, nach dem vorderen Gliedrand gerichteten Bogen über dem Cirrusbeutel umgeht die Vagina das Konvolut des Vas deferens, verläuft jetzt unterhalb von diesem teils wagrecht, teils schräg nach unten gegen die Mitte zu. In der Medianlinie zieht sie in einer Reihe von Windungen, die Wagener richtig dargestellt hat, gegen den Keimstock; kurz vor diesem bildet sie eine kleine flaschenförmige An-

schwellung, die als Receptaculum seminis aufzufassen ist und in ähnlicher Ausbildung von anderen Ichthyotänien bekannt ist, um sich hierauf zum Seminalkanal zu verengen; dieser tritt in den Interovarialraum ein, macht eine oder mehrere Schleifen und mündet von unten in die Schalendrüse ein. Gleichzeitig münden Dottergang und Keimgang ein. Diese Schalendrüse besteht aus großen keulenförmigen Zellen, welche den Eileiter auf eine kurze Strecke hin in Form eines Strahlenkranzes umgehen. Der Kern als eine undeutlich begrenzte Masse tritt bei diesen keulenförmigen Zellen nach Färbung nicht klar hervor.

Die Vagina besitzt eine kutikulaartige Wandung mit einer äußeren lockeren Zellschicht; diese geht in dem in der Mediane dem Keimstock zustrebenden Teil in ein typisches Drüsenepithel über; die Geschlechtswege im Interovarialaum besitzen ein Innenepithel.

Das Ovarium besteht aus einem zweilappigen Gebilde, das etwa das hintere Viertel eines Gliedes einnimmt. Die beiden Flügel sind sackartig und an ihrem äußeren Rand nur wenig eingebuchtet; sie sind durch ein gemeinsames Stück verbunden, aus welchem der Keimgang entspringt Das Innere des Keimstocks ist dicht mit Eizellen erfüllt, deren Kerne sich intensiv färben Den Nebenkern konnte ich nicht beobachten.

Innerhalb der Längsgefäße liegen die schmalen Dotterstöcke und durchziehen das Glied vom Vorderrand bis zum Hinterrand.

Der Uterus ist ein in der Mediane verlaufender weitlumiger Längskanal; er entsendet rechst und links eine Reihe von schmalen Aussackungen. Die Wandung dieser Aeste ist eine einfache strukturlose Haut; nebeneinander liegende Aeste werden durch Bindegewebe voneinander getrennt. Füllt sich der Uterus stark mit Eiern, so werden diese Wände aufgelöst, und die Eier liegen im Parenchym. Die reifen Eier besitzen eine Größe von 0,016 mm und haben zwei Eihüllen. Der Embryo trägt 3 Paar Embryonalhäkchen, wie sie allen Ichthyotänien zukommen.

Cuticula, Parenchym sowie Körpermuskulatur weisen keine Besonderheiten auf. Auf die Cuticula folgt die gut ausgebildete Ringmuskulatur; die innen anschließende Längsmuskulatur besteht aus parallel nebeneinander stehenden, schlauchförmigen Zellen. Die Längsmuskulatur des Körpers ist am stärksten entwickelt; sie setzt sich aus dünnen langen Fasern zusammen, bei denen die Muskelzellen zu fehlen scheinen. Auch die Transversalmuskulatur erfährt eine gute Ausbildung.

Ichthyotaenia torulosa (?) Batsch. Gelegentlich fand ich im Darm eines Kretzers (Perca fluviatilis L.) Larven, deren Bestimmung einige Schwierigkeiten machte (Oktober). Am meisten stimmen sie überein mit den Plerocercoiden von Ichthyotaenia torulosa Batsch, über welche Wagner (1917) berichtet; doch sind einmal hier die Kalkkörperchen wesentlich kleiner (0,013—0,018 gegen 0,03—0,05:0,05 bis 0,08 mm bei Wagner). Das Exkretionssystem, das bei der Bestimmung der Larven und Plerocercoide wichtige Dienste tut, stimmt im allgemeinen mit den Wagnerschen Angaben überein. Aber es ist keine Endblase vorhanden, sondern die Ausmündung der beiden Hauptlängsgefäße liegt auf einer kleinen Vorwölbung (Länge dieser Larven 3,12 mm, Breite 0,437 mm, Skolexdurchmesser 0,22 mm, Durchmesser der vier Saugnäpfe 0,054 mm).

Ichthyotaenia longicollis Rudolphi. Die bisherigen Angaben über das Fehlen der Kalkkörperchen bei diesem Cestoden kann ich nicht bestätigen. Sowohl Larven wie geschlechtsreife Tiere enthielten zahlreiche kleine, ungeschichtete Kalkkörperchen von unregelmäßiger Gestalt.

Nematoden.

Spiroptera tenuissima Rudolphi (mit Fig. 15). Diesen Nematoden fand ich im Darm von Lota vulgaris Cuv. und Thymallus vulgaris Nils., die Weibchen stimmen genau mit den Beschreibungen der früheren Autoren überein.

Unter mehreren Weibchen fand ich (3. 3. 22) im Darm einer Aesche ein einziges Männchen, das bis jetzt selten beobachtet wurde. Nufer gibt eine Beschreibung und Abbildung des Körperendes; mit diesen Angaben stimmen aber meine eigenen Beobachtungen nicht überein.

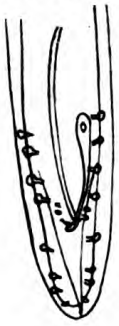


Fig. 15. Spiroptera tenuissima Rud. ♂. Hinterende. Vergr. ca. 420 × 1.

Der Kopf ist hier dünn und abgestumpft mit breiter Mundöffnung, die von drei Lippen umgeben ist; die beiden seitlichen endigen in einer Papille, während die mittlere charakteristisch ist durch zwei meist flügelartig verbreiterte Lappen. Der ungefähr gleich dicke Oesophagus wird durch eine Chiiinplatte vom Darm getrennt. Diese Momente stimmen also genau mit Zschokkes Beschreibung und Abbildung überein.

Die Länge des Männchens beträgt ca. 3,37 mm (nach Nufer 8,26 mm); die Körperbreite ist 0,099 mm (Nufer 0,08 mm). Nach vorn verschmälert sich der Körper; der Kopf ist nur 0,036 mm breit. Gegen den Schwanz verjüngt sich der Körper nur wenig (Körperbreite in Höhe des Anus 0,0855 mm). Der Schwanz ist abgerundet und trägt eine kleine überstehende Spitze (siehe Fig. 15). Die Zahl der präanalen Papillen ist 6, von denen die 4 äußeren groß und langgestielt sind, während die beiden untersten kurz und klein sind; die 4 postanalen Papillen sind groß. Nufer gibt nur 4 gleiche präanale und ebenso viele postanale Papillen an. Die Spicula sind ungleich lang (0,09 und 0,18 mm) und in ihrer Gestalt verschieden; die kürzere Spicula endigt in einer gebogenen Spitze.

Auch die Länge der sonst völlig übereinstimmenden Weibchen ist bedeutend geringer wie bei den früheren Angaben; sie beträgt bei den Parasiten aus Thymallus vulgaris Nils. nur gegen 7 mm, bei den Individuen aus Lota vulgaris Cuv. dagegen annähernd die normale Länge (bis 13 mm).

Myxosporidien.

Chloromyxum fluviatile Thélohan. Dieses Myxosporid, das von Thélohan (1892 in Paris) in der Gallenblase vom Alet (Squalius cephalus L.) gefunden und beschrieben wurde (bisher einziger Fund), fand ich in der Gallenblase des gleichen Wirts; meine Beobachtungen decken sich im wesentlichen mit denjenigen von Thélohan.

Die vegetativen Formen waren in 2 Arten zahlreich vertreten. Die jüngeren vegetativen Formen sind meist rund oder oval und farblos; Ekto- und Entoplasma sind deutlich geschieden. Das Ektoplasma umzieht in einem verhältnismäßig breiten Gürtel das Entoplasma (siehe Fig. 16) und zeigt dauernd aktive Formveränderung durch Aussenden von Pseudopodien nach allen Richtungen; das Entoplasma zeigt Vakuolen und sonstige kleine Einschlüsse; Größe dieser jüngeren vegetativen Formen bis 25 μ. Dagegen erreichen die älteren vegetativen Formen das 4—5fache der jungen Formen an Länge, bleiben aber immer relativ schmal; sie unterscheiden sich ferner durch ihre gelbe Farbe von jenen und durch ihre sehr zahlreichen körnigen Einschlüsse. Soweit ich die Literatur übersehe, sind bis jetzt bei keiner Chloromyxum-Spezies 2 derartig gut unterschiedene, für die Bestimmung wichtige vegetative Formen bekannt.

Fig. 16—17. Chloromyxum fluviatile Thél.
Fig. 16. Junge vegetative Form.
Fig. 17. Plasmogamie (?) von vegetativen Formen.

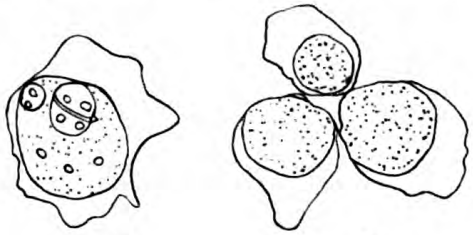


Fig. 16. Fig. 17.

Einen interessanten Vorgang konnte ich beobachten, der vielleicht als Beginn von Plasmogamie aufgefaßt werden kann: In einem Fall legten sich 3, in einem zweiten Fall 6 junge vegetative Formen aneinander; die Größe der zusammenstrebenden Formen war verschieden. Sporenanlagen waren keine erkennbar. An den Berührungsstellen buchtete sich das Entoplasma vor und trat durch das Ektoplasma durch. Es schienen sich Entoplasmabrücken zwischen den Einzelformen zu bilden und das Entoplasma darauf zu einer Masse zu verschmelzen; das Ektoplasma hatte sich zu Beginn der Aneinanderlegung auf deren Außenseiten zusammengezogen; soweit eine Beobachtung noch möglich war, schien es sich nach Vereinigung der Entoplasmamassen ringförmig außen herum zu legen. Gleichzeitig wurden einige kleinere Plasmamassen (nur Ektoplasma?) völlig abgeschnürt und vom Hauptkörper logelöst. Leider konnten die Kernverhältnisse bei diesem Vorgang nicht beobachtet werden. Hinter die Deutung dieses Vorganges als Plasmogamie möchte ich bis zur weiteren Bestätigung noch ein Fragezeichen setzen. — Auerbach hat Plasmogamie bei Myxidium bergense nachgewiesen, während Doflein sie für Chloromyxum wahrscheinlich macht; meine Feststellung würde also nicht allein stehen, sondern diese Annahme bestätigen.

Die jungen vegetativen Formen waren nur mono- oder dispor, in der Mehrzahl dispor; im Gegensatz dazu sind die älteren gelblichen Formen immer polyspor; wenn Thélohan Chloromyxum fluviatilis als polyspor bezeichnet hat, so trifft das nur für die älteren vegetativen Formen zu; die jüngeren sind dispor.

Die Sporen haben einen Durchmesser von 8,5 μ (nach Th. 7—8 μ) und eine Dicke von ca. 7 μ; sie sind typisch durch die doppelt konturierte Rille und die 3—4 kleinen Spitzen, die über den Schalenrand herausragen. 4 gleiche Polkapseln sind vorhanden (Länge 2,8—3 μ, Breite ca. 2 μ.

Chloromyxum incertum n. sp. Die Gallenblase einer jungen Aesche (Thymellus vulgaris Nils.) enthielt zahlreiche Sporen (Mai 1923); vegetative Formen waren nicht vorhanden; die Gallenflüssigkeit klar, so daß vermutlich eine ältere, im Ausheilen begriffene Infektion vorlag.

Die Sporen sind kreisrund (siehe Fig. 18), mit einem Durchmesser von 10—11,4 μ. Von der Kante gesehen, sind sie stark abgeplattet. Die Schalennaht ist breit und doppelt kenturiert. Die 4 Polkapseln haben gleiche Größe (Länge 2,1—2,7 μ); daneben treten in geringer Zahl abnorme eiförmige Sporen auf (siehe Zeichnung).

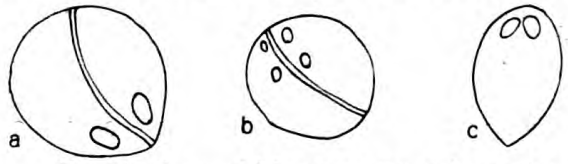
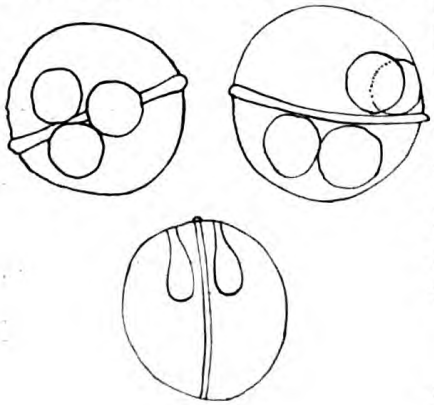


Fig. 18a, b, c. Chloromyxum incertum n. sp. Verschiedene Sporen.

Ein Vergleich mit den bisher bekannten Formen zeigt, daß in der Gallenblase der Schleie festgestellt wurden: Chloromyxum cristatum Léger (Grenoble) und Chloromyxum thymalli Lebzelter (Wien?). Die erstere stimmt in den Sporenmaßen (10—11 μ) mit unserer Art überein; dagegen besitzt sie ein zahnradartiges Rillensystem um die 4 Polkapseln, während Rillen bei unserer Form nicht beobachtet wurden. — Bei Chloromyxum cristatum sind die 4 Polkapseln verschieden groß, im vorliegenden Fall sind sie gleichlang; auch die Sporenmaße sind hier verschieden; ebenso weisen die Sporen Rillen auf. In Frage käme noch Chloromyxum protei Joseph (Wien) aus der Niere von Proteus anguineus; die Sporenmaße sind ähnlich, dagegen sind auch hier Längsrillen und längere Polkapseln (4—6 μ) vorhanden.

Demnach scheint unsere Chloromyxum-Spezies in den Sporen mit keiner bekannten Form übereinzustimmen. Sollten sich auch in den vegetativen Formen und in der Sporenbildung die Unterschiede bestätigen, so schlage ich den Namen Chloromyxum incertum vor.

Chloromyxum spec. In der Gallenflüssigkeit von Lauben (Alburnus lucidus L.) und eines Hasels (Leuciscus leuciscus L.) fanden sich vereinzelt Sporen dieser Art neben vegetativen Formen. Die Sporen waren rundlich; ihre Höhe beträgt 10 μ, ihre Breite annähernd ebensoviel; während bei Ansicht von der Kante eine Abplattung erkenntlich ist (Dicke 8,5 μ). Die 4 Polkapseln sind übers Kreuz gestellt (Länge ca. 4,3 μ; Breite ca. 2,1 μ). Der Rand ist breit; die Randnaht ist deutlich doppelt konturiert; sonst weisen die Sporen keinerlei Struktur auf.



Die vegetativen Formen sind von variabler Gestalt und Größe und zeigen eine deutliche Trennung in Ekto- und Entoplasma; ersteres ist hyalin durchsichtig und umgibt in breitem Saume das Entoplasma, welches zahlreiche verschiedenartige Einschlüsse enthält.

Fig. 19. Chloromyxum sp. n. sp. Sporen verschiedener Ansicht.

Unter den untersuchten Lauben (Alburnus lucidus L.) waren ca. 25 Proz. in ihren Gallen infiziert.

Auch hier scheint eine bis jetzt unbekannte Spezies vorzuliegen, die mit der oben beschriebenen Chloromyxum incertum viel Aehnlichkeit besitzt; sie unterscheidet sich aber deutlich durch die viel größeren Polkapseln (4,3 gegen 2,7 μ).

Von einer Bezeichnung dieser Spezies möchte ich vorläufig absehen. Bei einer Laube fand ich neben den oben beschriebenen Sporen noch Gebilde, die große Aehnlichkeit mit Sphaerospora masicova Cohn hatten; doch wage ich nicht zu entscheiden, ob hier auch dieses Myxosporid vorlag, das aus der Gallenblase von Abramis brama L. bekannt ist.

Chloromyxum dubium Auerbach. Dieses Myxosporid, das Auerbach in der Gallenblase von Lota vulgaris Cuv. aus dem Bodensee festgestellt hat, fand ich im gleichen Wirt. Von 17 Trüschen waren 4 infiziert. Festgestellt wurde die Infektion vom Dezember bis April; Auerbachs Untersuchungen erstreckten sich von April bis September.

Myxidium macrocapsulare Auerbach. Die Gallenblase eines Alburnus lucidus L. von 15 untersuchten Fischen, ferner zweier Hasel (Leuciscus leuciscus L., von 4 untersuchten Exemplaren) sowie eines Leuciscus rutilus L., von 20 Fischen, beherbergten zahlreiche Sporen dieses Parasiten, aber in keinem Fall vegetative Formen; die untersuchten Fälle wurden alle im Mai und April beobachtet.

Die Sporenlänge (nicht in der Diagonale) beträgt 12—14 μ; nach Auerbach 10—12 μ; Sporenbreite 6—7 μ; Polkapsellänge 4,21 μ; Polkapselbreite 2,8—3 μ. Bei Zusatz von NaOH erfolgt vereinzeltes Ausschnellen der Polfäden; Länge der Polfäden ca. 40 μ.

Bisher bekannte Wirte: Scardinius erythrophthalmus L. und Perca fluviatilis L., beide aus dem Rhein bei Karlsruhe.

Myxidienartiger Parasit. Die Beobachtungen, die Weißenberg „über einen myxosporidienartigen intrazellulären Glomerulusparasiten der Hechtniere" mitteilt (Zool. Anz. 1922), kann ich hier 2 Cysten der Hechtniere bestätigen (November 1922).

Myxobolus permagnus Wegener. Dieses Myxosporid gehört zu den seltenen Formen; von 400 Perca fluviatilis L. waren 5 infiziert, d. h. 1,25 Proz. Die Höchstzahl der Cysten auf einem Wirt war 17 (linksseitig 2, rechtsseitig 15), in 2 Fällen war je 1, in 1 Fall 2 Cysten anwesend.

Die Cysten werden bis 2 mm groß (einschließlich Bindegewebehülle), sind milchweiß und sitzen an der Basis der Kiemenblättchen. Die Angaben von Wegener kann ich im allgemeinen bestätigen.

Die Sporen sind eiförmig und teilweise nach dem Polende zugespitzt. Ebensooft ist aber auch eine leichte Abrundung des Polendes erkennbar. Sporenlänge: 15,7—20 μ, Sporenbreite: 10—12,8 μ. Sporendicke: 8,58 μ; sie besitzen demnach nur eine mäßige Abplattung. Polkapsellänge: 7,15—8,8 μ; Polkapselbreite: 2,8—3,5 μ, meist um 3 μ herum, bleibt also etwas unter der Polkapselbreite von Wegener zurück. Die Polfäden sind 42 μ lang; ihr Ausschnellen erfolgte bei Zusatz von Glyzerin und nach 4tägigem Eintrocknen bei Zusatz von heißem Wasser. Die beiden Polkapseln münden in zwei parallele, deutlich voneinander getrennte Ausführungsgänge. Eine breite

Schale umgibt die Spore mit meist 5—6 deutlichen Randfalten, die vornehmlich um den Amöboidkeim angeordnet sind, wie es Wegener angibt; doch kommen auch Sporen mit 8 Randfalten vor, die sich über die ganze Schalenwandung verteilen. Von der Kante gesehen, erscheint das Polende bei allen Sporen zugespitzt, während die Schalenwandung als starker Wulst über das Vorderende heraustritt (siehe Fig. 20).

In einer Cyste fand ich neben reifen Sporen vegetative Formen veränderlicher Gestalt. Hier konnte ich das Auftreten von borstenartigen Fortsätzen beobachten, wie sie zuerst durch Bütschli bei Myxidium lieberkühni festgestellt wurden, in neuerer Zeit auch bei Chloromyxum trijugum Kudo durch diesen Autor (siehe Fig. 21). An einer Vorbuchtung des Entoplasmas waren zahlreiche Plasmafäden ausgestreckt, die nach kurzer Zeit wieder eingezogen wurden. Das Ektoplasma umgab in unregelmäßig gewelltem Band das Entoplasma, ließ aber — soweit erkennbar — die Plasmafäden ganz frei; die Fortsätze setzten sich demnach nur aus Entoplasma zusammen, ein Verhalten, das im Widerspruch mit den bisherigen Beobachtungen gleicher Art stehen würde. Im Entoplasma liegen zahlreiche große helle und kleine dunkle Einschlüsse. Myxobolus permagnus ist dispor oder polyspor. Bisher einziges Verbreitungsgebiet: Königsberg und Pregel (Wegener).

Fig. 20.

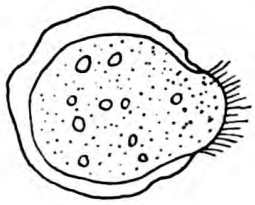


Fig. 21.

Fig. 20 u. 21. Myxobolus permagnus Wegener.
Fig. 20. Spore von der Kante gesehen. Vergr. ca. 1350×1.
Fig. 21. Vegetative Form mit Plasmafortsätzen. Vergr. ca. 900×1.

Henneguya (psorospermica) anura Cohn (Myxobolus anurus Cohn). Dieses Myxosporid fand ich in den Kiemen von Esox lucius L. mit Sicherheit 1mal (24. 4. 1923); der Fisch zeigte neben 2 großen Cysten von Henneguya lobosa Cohn in seinen Kiemen zahlreiche (ca. 30), sehr kleine weiße Cysten, die wegen ihrer geringen Größe und wegen ihres Sitzes an den weißen Kiemenbögen an der Basis der Kiemenblättchen leicht übersehen werden konnten.

Die Größe der ovalen Cysten (einschließlich Bindegewebehülle) schwankt zwischen 0,625—0,687 mm als Längsdurchmesser und 0,37 bis 0,5 mm als Querdurchmesser. Ohne Beschädigung der Cystenwand sind sie nur schwer von den Kiemenbögen abzulösen. Der Inhalt bestand nur aus reifen Sporen. Sporenmaße: Länge 17,1—25,7 μ, meist über 20 μ; Breite 8,58—10 μ; Polkapsellänge 8,5—10 μ, meist 10 μ, Polkapselbreite 2—2,86 μ, meist 2,5 μ; Sporendicke 4,29 μ, also starke Abplattung.

Ein Vergleich meiner Sporenmaße mit denjenigen von Cohn und Wegener zeigt, daß meine Sporen weit größere Dimensionen besitzen als bei den genannten Autoren.

Der Polfaden erreicht eine Länge bis 100 μ (bei Zusatz von HNO_3). Die Aufrollung des Polfadens ist bei frischen Sporen deutlich sichtbar. — Die Sporen sind meist gleichmäßig elliptisch langgestreckt mit zugespitztem Vorderende; der Schalenrand ist breit ohne jede Randfalten.

Neben diesen gleichmäßig gebauten Sporen sind andere mit seit-

lichen unregelmäßigen Einbuchtungen vorhanden, so wie sie etwa für Henneguya sporospermica typica Cohn charakteristisch sind. Wichtig ist ferner das Auftreten von vereinzelten Sporen mit einem kurzen Schwanzfaden, welche hinüberleiten zu Formen mit zwei langen klaffenden Schwanzfäden, also zu echten Henneguya-Sporen, eine Erscheinung, die anscheinend auch Lieberkühn schon beobachtete. Wir haben also in den kurzschwänzigen Formen fast ungeschwänzte Henneguya-Sporen vor uns. Die oben geschilderten Verhältnisse des Schalenbaues erinnern so sehr an gleiche Erscheinungen bei Henneguya sporosp. typica, daß die Einreihung unserer Art in das Genus Henneguya durch Labbé mir gerechtfertigt erscheint; auch Nemeczek ist dem 1911 beigetreten.

Henneguya anura Cohn ist bis jetzt nur in Königsberg, in der Ostsee und in verschiedenen Masurischen Seen festgestellt worden (Cohn und Wegener). Das Vorkommen im Bodensee macht ihre Verbreitung in anderen deutschen Stromgebieten wahrscheinlich.

Henneguya sporospermica typica Thélohan. Diese Form ist verschiedentlich (Thélohan, Cohn, Wegener, Auerbach) eingehend behandelt worden, so daß ich mich auf abweichende Beobachtungen beschränken kann.

Ein 55 cm langer Esox lucius L. war auf einer Kiemenseite mit über 200, auf der andern Seite mit nur 5 Cysten behaftet (24. 4. 1923). Ein 2. Hecht (2. 5. 1923) hatte nur eine Cyste, während ein 3. Tier einerseits 28, andererseits 7 Cysten besaß; bei der starken Infektion des erstgenannten Fisches saßen bis zu 4 Cysten an einem Kiemenblättchen übereinander.

Von Henneguya lobosa und anura unterscheiden sich diese Cysten durch ihre reinweiße, besser milchig-weiße Farbe. Sporenmaße: Länge (gesamt) 27—37 μ, Breite 7,5—10 μ; Sporen (ohne Schwanz) 15—20 μ; Polkapsellänge 7,15—10 μ; Polkapselbreite 1,4 bis 2,5 μ.

Als charakteristisch für diese Form kann das Vorkommen zahlreicher unregelmäßig elliptischer Sporen bezeichnet werden.

Neben den geschwänzten Sporen finden sich alle Uebergänge bis zu völlig ungeschwänzten. Die schwanzlosen sind meist viel größer wie die geschwänzten (bis zu 25 μ). Doch treten die schwanzlosen Sporen nur vereinzelt auf im Gegensatz zu Auerbachs Beobachtung, wo beide Formen gleich stark vertreten waren.

Bisheriges Verbreitungsgebiet: Frankreich, Frisches und Kurisches Haff, Pregel, Masurische Seen, Vierwaldstättersee, Rhein bei Karlsruhe.

Henneguya peri-intestinalis Cépède. An der äußeren Magenwand eines 45 cm langen Esox lucius L. saß eine weiße, ovale Cyste, die auf dem Grau-Weiß der Magenwand wenig auffiel (2. 5. 1923). Ihr Durchmesser (einschließlich Bindegewebehülle) betrug 1,25 zu 0,93 mm; da der Hecht in seinen Kiemen 35 Cysten von Henneguya psorospermica typica hatte, so lag die Vermutung nahe, daß diese Infektion auch hier an der Magenwand vorlag.

Die Untersuchung des Cysteninhalts ergab zahlreiche Sporen und nur wenige vegetative Körper; diese ließen den polysporen Charakter unserer Art deutlich erkennen.

Sporenmaße: Sporenlänge ((ohne Schwanzfaden) 18,5—21,4 μ, Schwanzfadenlänge 42,9—64,3 μ, Gesamtlänge 64,3—82,8 μ. Sporen-

breite 7,15—8,58 μ; Sporendicke 5,7 μ. Polkapsellänge 7,15 μ; Polkapselbreite 2—2,5 μ. Polfadenlänge bis 43 μ; das Ausschnellen erfolgte nach 9tägigem Eintrocknen bei Zusatz von HNO_3 und Jodwasser. Im Amöboidkeim ist eine jodophile Vakuole vorhanden.

Kernverhältnisse: Im Amöboidkeim ist ein Kern, der meist seitlich liegt; ferner sind zwei Polkapselkerne vorhanden.

Die Sporen besitzen eine breite Schalenwand; der Uebergang des Schwanzfadens in den Sporenkörper erfolgt meist ziemlich unvermittelt. Im übrigen zeigen die Sporen den gleichen Bau wie Henneguya psorospermica typica.

Ein Vergleich der Cystengröße der beiden Arten ergibt Uebereinstimmung; auch die Sporenmaße sind nicht wesentlich verschieden, abgesehen von den geringen Schwankungen, die bei Sporen ein und derselben Cyste auftreten können. Ein auf den ersten Blick auffälliges Unterscheidungsmerkmal ist in der Länge des Schwanzfadens gegeben. Während die Schwanzlänge von Henn. psor. typica die Länge des Sporenkörpers nicht ganz erreicht oder nur wenig übertrifft, ist das Verhältnis von Schwanzfaden zu Sporenkörper bei vorliegender Art 2:1 bis $3^1/_2$:1. Ferner kommen bei Henn. psor. typica geschwänzte und ungeschwänzte Sporen mit allen Uebergängen vor; hier habe ich keine ungeschwänzten beobachtet. Endlich fehlt hier die unregelmäßig elliptische Form von H. typica. Außerdem klaffen die frischen Sporen von H. typica meist deutlich; hier sah ich nie ein Klaffen der Schwanzfäden. Auf Grund dieser Beobachtungen scheint mir die Aufstellung dieser eigenen Spezies durch Cépède gerechtfertigt.

Bisheriges Verbreitungsgebiet: Frankreich (Lac du Bourget) und Oberitalien (Pavia).

Henneguya salvelini Zandt. Die Aufstellung dieser neuen Spezies (s. Zool. Anz. 1923) erscheint mir auch nach Ueberprüfung der Kernverhältnisse gerechtfertigt. Im Amöboidkeim liegen meist 1, selten 2 Kerne. Die Lage der Kerne schwankt, teils an der Seite, teils an dem äußeren oder inneren Rand der Vakuole. Bei der sehr ähnlichen Spezies Henn. nüsslini Schub. und Schröd. ist immer nur 1 Kern vorhanden; dieser liegt dicht an der Vakuole. Die Kerne der neuen Spezies sind kompakter und abgerundeter wie bei Henneguya nüsslini.

Henneguya (?) lobosa Cohn. Die typischen gelappten Cysten dieses Myxosporids fand ich auf den Kiemen von 2 Hechten (beide April 1923); das eine Mal enthielten die Kiemen 1, das andere Mal 2 Cysten. Den Untersuchungen von Cohn, Wegener und Auerbach habe ich nicht viel hinzuzufügen. Auch meine frischen Sporen zeigten meist ein deutliches Klaffen der Schwanzfäden. Eine jodophile Vakuole war nicht nachzuweisen. Die Sporenmaße waren etwas größer wie bei den genannten Autoren. Sporenlänge (gesamt) 40—44 μ; Sporenbreite 5,6—6,4 μ. Sporen ohne Schwanz 15,7—18 μ. Polkapsellänge 5,6—7,15 μ; Polkapselbreite 1,4—2 μ.

Die Frage, ob hier eine Henneguya- oder Myxidium-Spezies vorliegt, konnte bei dem geringen Material nicht gelöst werden. Die Spezies gehört zu den seltenen Kiemenparasiten. Bisheriges Verbreitungsgebiet: Frisches Haff, Pregel, Rhein bei Karlsruhe.

Henneguya similis n. sp. Der Bodenseebarsch (Perca fluviatilis L.) hat auf seinen Kiemen eine Infektion mit einem bis

jetzt unbekannten Myxosporid. Die Zahl der Cysten auf einem Wirt kann 1 bis viele betragen; die Höchstzahl war ca. 50. Die Infektion der beiden Kiemenseiten ist nicht gleich stark; es tritt oft eine starke Infektion der einen Seite mit nur wenig Cysten der andern Seite auf; dabei sind die Kiemenblättchen der vorderen Kiemenbögen meist viel stärker mit Cysten besetzt wie die hinteren Bögen. Der Sitz der Cysten ist das Ende der Kiemenblättchen, oder sie sind wenigstens dem Ende genähert; an der Basis treten sie nie auf. Die Zahl der infizierten Fische ist nicht groß; unter ca. 40 untersuchten Barschen waren 17 von diesem Parasiten befallen, also 4,3 Proz.

Auf Grund meiner über 2 Jahre sich erstreckenden Untersuchungen glaube ich aussprechen zu dürfen, daß Henneguya similis n. sp. eine Periodizität im jahreszeitlichen Auftreten zeigt. Ihr erstes Auftreten fällt um Dezember—Januar herum; in der ersten Zeit sind reife Sporen nicht vorhanden; diese erscheinen erst Februar—März. Erkrankte Fische konnte ich in beiden Jahren bis etwa Ende Mai feststellen, und zwar während dieses Zeitraumes ziemlich häufig, so daß der Prozentsatz der erkrankten Fische in diesem Zeitraum viel größer ist als die oben genannte Zahl (Jahresdurchschnitt). Von Mai bis etwa Dezember habe ich keine einzige Cyste dieses Myxosporids zu Gesicht bekommen, trotz sehr zahlreichen Materials, das ich gerade im Jahre 1923 daraufhin untersuchte.

Die Cysten sind teils rund, teils oval; meist aber zeigen sie eine ganz ausgesprochen bohnenförmige oder nierenförmige Gestalt (siehe Fig. 22 und 23); die runden Formen scheinen die ursprünglicheren

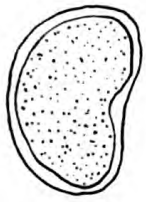


Fig. 22.

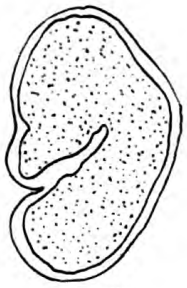


Fig. 23.

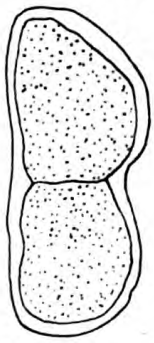


Fig. 24.

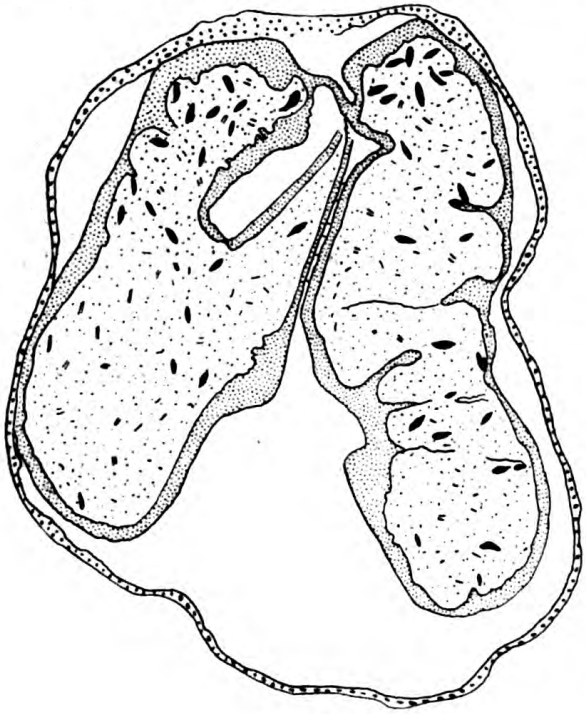
Fig. 22—27. Henneguya similis n. sp.
Fig. 22 u. 23. Cysten.
Fig. 24. Doppelcyste.

und auch jüngeren, kleineren zu sein. Bei zunehmendem Wachstum erfolgt wohl die Anlagerung der Masse besonders stark an zwei entgegengesetzten Polen, so daß hier sackförmige Fortsätze nur nach einer Seite entstehen, die dann eine Einschnürung in der Mitte umlagern. Bei Weiterentwicklung kommen Formen vor, die mit ihren gelegentlichen Verzweigungen Aehnlichkeit mit Cysten von Henneguya lobosa haben; im weiteren Verlauf wird auf die nahe Verwandtschaft mit dieser Spezies noch einzugehen sein.

Die Größe der Cysten schwankt zwischen 0,5 mm (runde Cysten) und 1,7:1,1 mm (nierenförmig) Durchmesser, wobei die Bindegewebehülle nicht mitgemessen ist.

Die Untersuchung der Schnitte ergab eine Bindegewebehülle, die in der Dicke sehr schwankt; sie besteht aus ein oder mehreren Lagen von Zellen mit sehr verschieden großen Zellkernen; diese schwankende Dicke der Cystenwand hat unsere Spezies gemeinsam mit Henneguya texta Cohn.

Im Innern liegt ein Myxosporid, das mehrere Loben entsendet und eigentümlicherweise mit seinem Ektoplasma nur an wenigen Stellen dem Bindegewebe des Wirts anliegt (siehe Fig. 25).



Das Ektoplasma stellt eine Plasmazone von verschiedener Dicke dar, die sich mit Giemsa leicht rosarot färbt und homogen zu sein scheint. Das Entoplasma ist erfüllt mit Pansporablasten; den ganzen Innenraum nehmen die dicht gedrängten Sporen ein; eine stromartige Anordnung der Sporen, wie sie Cohn für Henneguya lobosa angibt, ist hier nicht zu erkennen.

Fig. 25. Fig. 26. Fig. 27.

Fig. 25. Schnitt durch eine Cyste von 5 μ. Färbung nach Giemsa. Vergr. ca. 650 × 1.
Fig. 26. Sporoblast in Kugelform.
Fig. 27. Sporoblast in der Ausbreitung, den Beginn der Trennung der Sporen zeigend.

Gelegentlich tritt das Ektoplasma mit wurzelartigen Fortsätzen in das Innere ein, durchzieht das Entoplasma und begegnet ähnlichen Ausläufern von der entgegengesetzten Wand; eine völlige Verbindung dieser aufeinander zustrebenden ektoplasmatischen Bahnen konnte ich nicht wahrnehmen.

Diese Plasmastreifung erinnert lebhaft an das Plasmabild, das Cohn von Henneguya texta gibt. Daß es sich in unserem Falle um echte Ausläufer des Ektoplasmas handelt, scheint mir außer Frage zu stehen; darauf deutet auch die ganz einheitliche Färbung beider Gebilde. Ich bin deshalb auch geneigt, die ähnlichen, bei Cohn beschriebenen Plasmastrukturen von Henneguya texta als gleichen Ursprungs aufzufassen und kann Auerbach nicht zustimmen, wenn er auf Grund von Untersuchungen an Henneguya psorospermica oviperda die Vermutung ausspricht, daß es sich bei Cohns Plasma-

brücken um bindegewebige Wirtswucherungen in das Plasma hinein handelt.

Doppelcysten, wie sie bei anderen Henneguya-Arten bekannt sind, treten auch hier auf; die Zusammensetzung dieser langgestreckten, äußerlich einheitlich erscheinenden Gebilde aus 2 Cysten kann meist nur auf Schnitten erkannt werden.

Die Sporen sind schlank; die größte Breite wird in Höhe des Hinterrandes der Polkapseln etwas hinter der Mitte erreicht. Gegen das Schwanzende setzt sich der Sporenkörper ziemlich rasch und unvermittelt ab. Die Polkapseln verlaufen fast parallel.

Sporenmaße: Länge (ohne Schwanzfaden) 18—32 μ; Hauptwert bei 24 μ. Gesamtlänge (mit Schwanzfaden) 37—60 μ. Sporenbreite 5,7—10 μ; Hauptwert um 7 μ. Sporendicke 5,72 μ, also nur geringe Abplattung. Schwanzfadenlänge 18—36 μ. Polkapsellänge 7,5—12,8 μ, meist über 10 μ. Polkapselbreite 2—2,8 μ.

Die Schwanzfäden klaffen bei frischen Sporen von der Basis an. Schwanzlose Sporen wurden nicht beobachtet. Der ausgestreckte Polfaden erreicht eine Länge von 100 μ (Ausschnellen bei Jodlösung; Zusatz von warmem Wasser nach Eintrocknen; negativ bei HCl und Glyzerin). Dabei wurde wie bei Henneguya salvelini meist nur ein Polfaden ausgeschnellt. Eine jodophile Vakuole konnte nicht nachgewiesen werden (Uebereinstimmung mit Henneguya lobosa). Der Amöboidkeim hat einen rundlichen, zentral gelegenen Kern; außerdem sind 2 Polkapselkerne vorhanden.

Eine interessante Beobachtung konnte ich machen, die zur Beurteilung der Tätigkeit des Polfadens einiges beitragen könnte. Sporen, die ich mit Wasser unter gut gestütztem Deckglas beobachtete, schnellten teilweise einen Polfaden aus; mehrere Sporen, die in die Nähe der zerquetschten Cystenwand kamen, hefteten sich mit dem freien Ende des Polfadens dort fest und zogen den Sporenkörper unter korkzieherartigem Aufrollen des Polfadens zum Befestigungspunkt nach.

Ueber die Entwicklung von unserer Henneguya soll hier so viel gesagt werden, daß wir eine dispore Form vor uns haben. Eine merkwürdige Erscheinung bot sich bei Ansicht von zerquetschten Cysten, deren Sporoblasten den Hauptraum ausfüllten, ohne daß reife Sporen vorhanden waren. Die Sporoblasten rollten in Form von Kugeln mit den deutlich wahrnehmbaren 4 Polkapseln durch das Gesichtsfeld; in Ruhe gekommen, konnte gelegentlich eine flächenartige Ausbreitung der Sporoblasten wahrgenommen werden. Da mir die kugelförmigen Sporoblasten auf Schnitten nicht begegnet sind, so fasse ich diese Kugelgestalt als eine Art Schutzform auf (Fig. 26). Die Trennung der beiden Sporen aus den Sporoblasten war einige Male im Beginn zu sehen (siehe Fig. 27).

Aus vorstehenden Ausführungen ist ersichtlich, daß unsere Henneguya-Spezies auf der einen Seite viel Aehnlichkeit mit Henn. lobosa Cohn hat (schlanke Gestalt der Sporen, Fehlen der jodophilen Vakuole, ähnlicher Habitus der Cyste); im Cystenbau dagegen lehnt sich das Myxosporid eng an Henneguya texta Cohn an.

Ich möchte daher den Namen Henneguya similis vorschlagen.

Glugea spec. Die Niere eines Hechts (6. 23) enthielt eine runde, weiße Cyste (Durchmesser 1 mm); der Inhalt bestand aus Sporen, deren einzige Polkapsel erst bei Zusatz von Glyzerin sichtbar

wurde. Die Sporen sind eiförmig bis rund; ihre Länge beträgt 5,72 bis 4,29 μ; die Polkapsel ist kreisrund.

Copepoden.

Basanistes coregoni Neresheimer. Dieser Lernaeopodide, erstmalig durch v. Siebold auf den Kiemen des Coregonus Wartmanni Bloch beobachtet, dann durch Neresheimer auf Coregonus macrophthalmus Nüss. daselbst festgestellt, der zuerst auch die Art beschrieb, wurde durch Baumann auf Coregonus Wartmanni compactus F. im Zugersee gefunden.

Im Bodensee habe ich den Parasiten außer auf dem Blaufelchen und dem Gangfisch noch auf Coregonus acronius Rapp. nachgewiesen. Infiziert waren vom Blaufelchen und Gangfisch ca 50 Proz.; die Zahl der befallenen Kilche ist nicht so groß. Der Parasit setzt sich an große und kleine Fische und erscheint Sommer und Winter in gleicher Stärke. Mit der Haftscheibe sitzt er an den Kiemenbögen und ragt mit seinem Körper meist in die Mundhöhle, so daß ein Blick in die Mundöffnung meist zur Feststellung seiner Anwesenheit genügt. Mit ihm erscheinen gelegentlich Ergasilus Sieboldi v. Nordmann und Discocotyle sagittatum. Der Schmarotzer kommt vereinzelt, meist aber zu zweien oder mehreren in einem Wirt vor; die Höchstzahl betrug 14 Individuen.

Form und Größe der Tiere sind verschieden, je nach dem Alter. Die jüngsten Parasiten, bei denen noch keine Eiersäcke entwickelt sind, erreichen die Gesamtlänge von etwa 2,75 mm. Das Abdomen ist hier eiförmig gestreckt und besitzt eine auf dem Rücken undeutliche, von der Bauchseite deutliche Gliederung. Daß es junge, noch nicht lang festsitzende Tiere sind, beweist das leichte Loslösen der Haftscheibe aus dem Kiemenbogen; bei älteren Stadien ist die Verbindung des Haftapparats mit dem Wirtsgewebe so innig, daß eine Lösung nur mit Beschädigung des einen Teils erfolgen kann.

Bei älteren Tieren schwillt durch starke Produktion von Eiern das Abdomen an; daraus ergibt sich eine Form, die außerordentliche Aehnlichkeit mit Achtheres percarum v. Nordmann hat; der Körper ist fast viereckig und besitzt eine mehr oder weniger deutliche Gliederung (von der Bauchseite deutlicher). Auch die beiden gelbbraunen kugeligen Gebilde am Hinterende, die zur Aufnahme des Spermas dienen und als Receptaculum seminis bezeichnet werden können, sind auf den jüngsten und diesen Stadien klar ersichtlich. Wenn die Anschwellung des Hinterkörpers noch weiter zunimmt, so entsteht jene sackförmige oder besser unförmige Gestalt, die bei den meisten Individuen auffällt. Von Gliederung ist hier nichts mehr zu erkennen; die beiden Endknöpfe (Receptacula seminis) sind ganz auf die Bauchfläche gerückt und mit Schleim und Vorticellen völlig überdeckt.

Auch Gestalt und Größe der Eiersäcke unterliegen vielen Schwankungen. Bei den jungen Formen sind sie ebenso lang als breit und enthalten nur wenig Eier; auch können rechts- und linksseitige Säckchen verschieden groß sein. Erst bei älteren Tieren findet man jene langen wurstartigen Gebilde, wie sie Neresheimer abgebildet hat.

Eine interessante Zwischenform habe ich einmal gefunden, die den Beginn des seßhaften Stadiums darstellt, mit nur schwach entwickelten Klammerfüßen und ganz kleiner Haftscheibe, im übrigen aber in

ihrem schlanken Körperchen noch viel Gemeinsames mit dem Männchen hat; doch soll darauf an anderem Ort näher eingegangen werden.

Das bis jetzt unbekannte Männchen habe ich in zwei Exemplaren gefunden (bei Coregonus macrophthalmus Nüssl. und bei Coregonus Wartmanni Bl.). Es saß frei im Kiemenschleim und war wegen seiner geringen Größe und seiner blassen matten Farbe leicht zu übersehen. Ich habe nicht den Eindruck, als ob es häufig wäre; doch können meine geringen Funde vielleicht dahin ergänzt werden, daß die mit freier Ortsbewegung ausgerüsteten Männchen im Gegensatz zum Weibchen die Mundhöhle noch verlassen können. Seine Länge (siehe Fig. 28) beträgt 1,3 mm, bleibt also um ein Beträchtliches hinter dem jüngsten Weibchen zurück; als eigentliches Zwergmännchen kann es aber trotzdem nicht bezeichnet werden. Die größte Breite (im Hinterkörper) ist 0,2 mm. Charakteristisch sind besonders die inneren und äußeren Maxillarfüße (siehe Fig. 29 und 30), die mit den entsprechenden Gebilden der anderen männlichen Lernaeopodiden im wesentlichen übereinstimmen; die beiden zangenförmigen Scheren der äußeren Maxillarfüße werden durch zwei starke Muskeln bewegt. Die beiden inneren Maxillarfüße sind in der Mittellinie verwachsen.

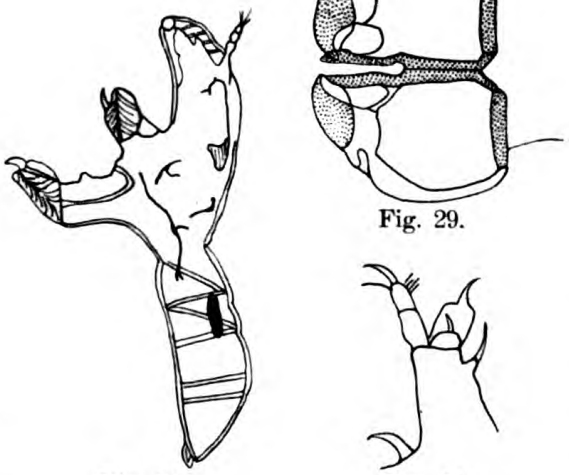


Fig. 28.

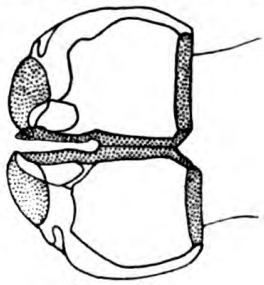


Fig. 29.

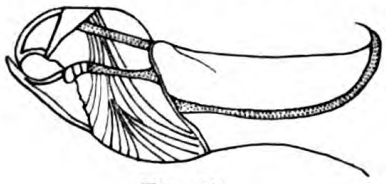


Fig. 30.

Fig. 31.

Fig. 32.

Fig. 33.

Fig. 28—33. Basanistes coregoni Neresheimer. ♂.
Fig. 28. Männchen von der Seite. Vergr. ca. 40×1.
Fig. 29. Männchen, innere Maxillarfüße. Vergr. ca. 230×1.
Fig. 30. Männchen, äußere Maxillarfüße. Vergr. ca. 230×1.
Fig. 31. Männchen, erste Antenne links. Vergr. ca. 460×1.
Fig. 32. Männchen, erste und zweite Antenne. Vergr. ca. 110×1.
Fig. 33. Männchen, Mundgliedmaßen. Vergr. ca. 230×1.

Die ersten Antennen (siehe Fig. 31) beginnen mit großem Basalglied, spalten sich dann in 2 Aeste; der längere, zweigliedrige trägt distal einen starken, krallenförmigen Haken und seitwärts mehrere lange Haare; möglich, daß wir es hier mit Sinneshaaren zu tun haben. Der kleine Ast ist eingliedrig, ebenso mit einem Haken an der Spitze bewehrt und trägt an seiner Basis einen kleinen, ebenfalls mit einem Haken versehenen Höcker; auch an der Seite und Basis sind zwei stärkere Haken sichtbar.

Die 2. Antenne (siehe Fig. 32) ist 4(?)gliedrig und am distalen Ende mit mehreren langen Haaren ausgerüstet; an dem vorderen Ende des 2. Gliedes entspringt ein kleiner Höcker; über seine Bedeutung kann ich nichts sagen. Möglicherweise handelt es sich um einen Sinnesapparat; denn die Antenne ragt durch ihre Länge weit über den Kopf hinaus und wäre als Träger von Sinnesorganen deshalb besonders geeignet.

Die Mundgliedmaßen (siehe Fig. 33) stimmen — soweit Beobachtungen möglich waren — mit den Verhältnissen bei Achtheres percarum v. N. überein.

Ergasilus Sieboldi v. Nordmann. Bei der Untersuchung dieses bei Bodenseefischen häufigen Kiemenparasiten fiel mir auf, daß die untersuchten Copepoden der Beschreibung entsprechen, die Baumann von Ergasilus Surbecki gibt; speziell in der Zahl der Furcaläste konnte ich nirgends eine Abweichung von der Spezies von Baumann feststellen. Demnach wäre dieser für die Schweizer Seen (Zuger- und Neuenburgersee) auf Coregonen heimische Copepode vermutlich der einzige Vertreter der Gattung im Bodensee (außer Erg. trisetaceus). Von Bedeutung scheint mir in diesem Zusammenhang, was Wegener über Ergasilus Sieboldi schreibt (siehe dort S. 66): „Kleine Abweichungen habe ich nur bei den Abdominalborsten gefunden. Ihre Zahl beträgt nämlich nach meiner Beobachtung an jedem Furcalast vier. Neben dem größten Borstenpaar, das auch auf der v. Nordmannschen Zeichnung angegeben ist, findet sich auf jeder Seite nach ein zweites, bedeutend kleineres, das allerdings meist den großen Borsten anliegt und nur bei gespreizter Lage derselben sichtbar wird. Eine der kleinen Borsten liegt zwischen den beiden großen, die andere außen am Furcalast. Die Länge der großen Borsten beträgt 0,35—0,4 mm; sie übertreffen die Größe der Furcaläste etwa um das Dreifache.“ Diese Beschreibung ließe den Schluß auf die Baumannsche Spezies zu.

Da mir die einschlägige Literatur (besonders: Wilson, North American Parasit Fam. Ergasilidae 1911, und: Gadd, Parasit-Copepoder i Finnland 1904) nicht zugänglich war, so kann ich kein Urteil über die Frage mir erlauben, in welchem Verhältnis die beiden Spezies Sieboldi und Surbecki zueinander stehen.

Die Reihenfolge der Parasiten, nach der Zahl ihrer Wirte geordnet, gibt folgendes Bild:

1. Diplostomum volvens v. Nordmann in 21 Wirten, 2. Tylodelphys clavata v. Nordmann in 17 Wirten, 3. Ergasilus Sieboldi (?) v. Nordmann in 15 Wirten, 4. Ichthyotaenia longicollis in 10 (11?) Wirten, 5. Abothrium crassum in 11 Wirten, 6. Pomphorhynchus laevis in 7 Wirten, 7. Diplozoon paradoxum in 7 Wirten, 8. Sphaerostomum bramae in 6 Wirten, 9. Ichthyotaenia torulosa in 6 Wirten, 10. Neorhynchus rutili in 6 Wirten, 11. Discocotyle sagittatum in 5 Wirten, 12. Allocreadium isoporum in 5 Wirten, 13. Bunodera luciopercae in 5 Wirten, 14. Caryophyllaeus laticeps in 5 Wirten, 15. Acanthocephalus lucii in 5 Wirten, 16. Myxobolus Mülleri in 5 Wirten, 17. Gyrodactylus elegans in 4 Wirten, 18. Dactylogyrus crucifer in 4 Wirten, 19. Cyathocephalus truncatus in 4 Wirten, 20. Myxobolus cycloides in 4 Wirten.

Ueber die Individuenzahl, in welcher die Parasiten auftreten, läßt sich folgendes sagen: Diplostomum volvens und Tylodelphys clavata kommen in ihren regelmäßigen Wirten stets in großer Zahl, in den gelegentlichen Wirten vereinzelt vor. Neorhynchus rutili und Acanthocephalus lucii erscheinen immer nur vereinzelt;

letzterer macht nur in der Trüsche eine Ausnahme hiervon. Die übrigen Schmarotzer treten zumeist in mehreren bis vielen in einem Wirt auf; ich verweise auf den tabellarischen Teil[1]).

Ichthyotaenia torulosa Batsch und Ichthyotaenia longicollis Rud. sind meist in mehreren Exemplaren in 1 Wirt anwesend, gelegentlich vereinzelt. Ein eigenartiges Verhalten zeigen hierbei die Coregonen. Hier treten im Frühjahr und Sommer in einem Wirt eine sehr große Zahl von ganz jungen Larven (Plerocerkoide) im Darm auf, zugleich mit dem Brei der unverdauten Copepodenschalen (bei Coregonus macrophthalmus, Cor. Wartmanni, Cor. fera, Cor. acronius); mit den Plerocerkoiden bevölkerten den Darm Larven mit den ersten Gliedern der Strobila und mehrere erwachsene Individuen. Die räumliche Verteilung der verschiedenen Stadien war bemerkenswert: Im Enddarm saßen nur Plerocerkoide, im Mitteldarm außer diesen auch Larven mit kurzer Strobila, in der Gegend der Appendices pyloricae ältere Individuen mit nur wenigen jüngeren Stadien.

Da diese Verteilung bei den meisten Coregonen anzutreffen war, bei Tieren kurz nach dem Tode und viel später, so scheint mir ein postmortaler Vorgang, an den ich zuerst dachte, ausgeschlossen, jedenfalls in vielen Fällen. Die Möglichkeit, daß von den sehr zahlreichen Plerocerkoiden (bis zu 100) ein großer Teil passiv mit dem Darminhalt wandert und dabei mit den Fäzes nach außen entleert wird, ist angesichts der relativ geringen Zahl von älteren Stadien gegenüber der Unmasse von Plerocerkoiden nicht ganz von der Hand zu weisen; wir hätten es also mit einer Art Selbstschutz des Darms gegen eine übermäßig starke Infektion zu tun.

Im Winter bei Untersuchungen von Coregonen (Blaufelchen und Gangfisch) enthielten die Därme nie ganz junge Ichthyotaenia-Stadien in der Gegend der App. pyloricae; der Enddarm war immer frei. Reife Geschlechtsprodukte enthielten diese Tänien des Winters nie. Diese Erfahrungen bestätigen die früheren Beobachtungen (besonders von Wagner mit Ichthyotaenia torulosa), daß die Infektion durch Plankton-Zwischenwirte nur bis etwa Oktober erfolgt und daß nur während des Sommers Eier von den Fischtänien produziert werden.

Die Erfahrung, daß einige Parasitenspezies auf biologisch gleichwertige Wirte ganz oder in der Hauptsache beschränkt sind, kann auch im Bodensee bestätigt werden; das zeigt folgende Tabelle:

Parasit	Wirt
Dactylogyrus-Genus	Cypriniden (Friedfische)
Discocotyle sagittatum	Coregonen
Bunodera luciopercae	Raubfische (daneben Cottus gobio)
Sphaerostomum bramae	Cypriniden (außerdem Thymallus vulgaris)
Allocreadium isoporum	„ „ „ „
Caryophyllaeus mutabilis	Cypriniden
Cyathocephalus truncatus	Raubfische (ferner Coregonus fera und acronius)
Achtheres coregoni	Coregonen
Basanistes coregoni	„

Ueber die Verbreitung der Parasiten-Ordnungen gibt uns folgende Tabelle Aufschluß:

1) Aus Raumersparnis beim Druck ausgeschieden.

Name des Wirts	Ekto-trematoden	Ento-trematoden	Trematoden gesamt	Cestoden	Nematoden	Acantho-cephalen	Myxo-sporidien	Copepoden	Hirudineen	Gesamtzahl
Perca fluviatilis	—	4	4	6	2	1	3	1	1	18
Lota vulgaris	1	3	4	6	5	3	4	—	1	23
Squalius cephalus	2	4	6	2	1	2	4	1	—	16
Esox lucius	1	4	5	2	3	—	7	1	1	19
Salmo salvelinus	1	—	1	1	—	1	2	—	—	5
Trutta lacustris	—	1	1	2	2	—	—	1	—	6
Lucioperca sandra	—	3	3	—	—	—	—	—	—	3
Cottus gobio	1	6	7	2	1	1	—	—	—	11
Tinca vulgaris	—	2	2	—	—	—	—	1	—	3
Barbus fluviatilis	—	3	3	1	—	4	—	2	—	10
Abramis brama	3	3	6	2	—	—	2	—	—	10
Blicca bjoerkna	3	3	6	1	2	—	3	—	—	12
Alburnus lucidus	4	3	7	4	2	—	4	—	—	17
Scardinius erythrophthalmus	2	2	4	—	1	—	—	—	—	5
Leuciscus rutilus	5	5	10	3	2	1	2	—	—	18
Leuciscus leuciscus	1	4	5	2	—	1	2	1	—	11
Phoxinus laevis	1	2	3	—	1	—	—	1	—	5
Cobitis barbatula	1	1	2	—	1	—	—	—	—	3
Anguilla vulgaris	—	—	—	1	—	1	—	—	—	2
Coregonus macrophthalmus	1	1	2	1	—	1	3	3	—	10
Coregonus Wartmanni	1	—	1	1	—	—	2	3	—	7
Coregonus maraena	1	1	2	1	—	—	2	1	—	6
Coregonus fera	2	3	5	3	—	—	2	2	—	12
Coregonus acronius	1	2	3	2	—	—	1	2	—	8
Silurus glanis	1	1	2	1	—	1	—	2	—	6
Thymallus vulgaris	—	6	6	3	1	1	1	1	—	13

Danach stehen an erster Stelle: die Trematoden mit 25 Wirten
„ Cestoden „ 21 „
„ Myxosporidien „ 16 „
„ Copepoden „ 15 „
weiter „ Nematoden „ 13 „
endlich „ Acanthocephalen „ 12 „

Die Hirudineen können hier nicht in Betracht gezogen werden, da sie meist beim Herausnehmen der Fische aus dem Wasser abfallen, somit nur ausnahmsweise zur Beobachtung kamen.

An 1. Stelle stehen die Trematoden. Betrachten wir dabei noch die Aufteilung in Ekto- und Entotrematoden, so zeigt sich, daß bei den Raubfischen im allgemeinen die Entotrematoden überwiegen, während bei den ektoparasitischen Trematoden das Schwergewicht mehr bei den Friedfischen liegt. Das stärkere Hervortreten der Entotrematoden bei den Raubfischen hängt zweifellos mit der Art der Nahrungsaufnahme zusammen; die im ganzen, aber nicht durchweg, stärkere Vertretung der Ektoparasiten bei den Friedfischen steht vermutlich mit der Allgemeinverbreitung dieser Trematodenlarven im Wasser in Verbindung. Wirte zu dieser Gruppe finden wir sowohl unter den Bewohnern der Halde wie unter den Grundfischen (Lota vulgaris). Eine Ausnahme von obiger Regel machen wohl die Augentrematoden Diplostomum volvens und Tylodelphys clavata, die auch zum Parasitenbestand der Coregonen gehören. Bei der fast ausschließlichen Planktonnahrung dieser letzteren und der großen Verbreitung der beiden Augentrematoden in den Bodenseefischen ist ein Zusammenhang der Nahrung mit dem Auftreten dieser beiden Trematoden bei

den Coregonen nicht ersichtlich. Wir gelangen von dieser Betrachtung zu der Möglichkeit, daß diese Larven von außen ins Auge eindringen.

Die Cestoden, die hier an 2. Stelle kommen, finden ihre stärkste Vertretung bei den Raubfischen, erscheinen aber auch konstant bei den Coregonen (Ichthyotaenien). Die Myxosporidien scheinen die Hauptmasse der Vertreter auch unter den Raubfischen zu haben.

3. Vergleichende Betrachtungen.

Während bei meinen Untersuchungen der Prozentsatz der infizierten Fische ziemlich gleich 100 ist (zwei Fische waren parasitenfrei), zeigen die Ergebnisse anderer Gewässer ein anderes Bild. Am nächsten kommen dem Parasitenreichtum des Bodensees die Verhältnisse in den Plöner Gewässern, wo Voigt nur zwei parasitenfreie Fische fand. Aehnlich stark sind die Fische des Genfersees infiziert; Zschokke hat hier parasitenfreie Fische als Seltenheit bezeichnet. Völlig anders wird das Bild bei fließenden Gewässern (Elbe, untersucht durch Sramek; Bäche der Umgebung von Nancy durch Prenant; Rhein durch Hausmann). Hier ist die Fischparasitenfauna bedeutend ärmer an Arten wie an Individuenzahl. Zu den parasitenreichen Gewässern muß auch der Vierwaldstättersee gerechnet werden; Nufer hat festgestellt, daß 62,8 Proz. aller untersuchten Fische von Schmarotzern befallen waren.

Zum Vergleich der Parasitenfauna verschiedener Gewässer dient folgende Tabelle; die Ergebnisse von Bodensee, Rhein, Vierwaldstättersee und Genfersee (Rhein, Vierwaldstättersee und Genfersee nach Nufer) sind zusammengestellt:

Name des Parasiten	Bodensee	Rhein	Vierwaldstättersee	Genfersee
! Ichthyotaenia percae (= ocellata)	+	+	+	+
! „ longicollis	+	+	+	+
! „ torulosa	+	+	+	+
„ macrocephala	?	—	+	—
„ osculata	+	—	—	—
„ salmonis umblae	—	—	—	+
! Cyathocephalus truncatus	+	+	+	+
! Caryophyllaeus laticeps (= mutabilis)	+	+	+	+
Ligula intestinalis	+	+	—	+
! Diphyllobothrium latum (= Bothriocephalus)	+	+	+	+
! Triaenophorus nodulosus	+	+	+	+
! Abothrium crassum (= infundibuliforme)	+	+	+	+
Diphyllobothrium rectangulus (= Bothriocephalus)	—	+	+	—
Bothriocephalus spec.	—	+	+	—
„ osmeri	—	+	—	—
Tetrarhynchus solidus	—	+	—	—
„ grossus	—	+	—	—
„ macrobothrius	—	+	—	—
„ spec.	—	+	—	—
„ lotae	—	—	—	+
Rhynchobothrium paleaceum	—	+	—	—

Name des Parasiten	Bodensee	Rhein	Vierwaldstättersee	Genfersee
Gyrodactylus elegans	+	+	+	—
„ gracilis	+	—	—	—
Ancyrocephalus monenteron	+	—	—	—
„ siluri n. sp.	+	—	—	—
„ spec.	+	—	—	—
Dactylogyrus crucifer	+	—	+	—
„ fallax	+	—	—	—
„ parvus	+	—	—	—
„ difformis	+	—	—	—
„ sphyrna	+	—	—	—
„ similis	+	—	—	—
„ alatus	+	—	—	—
„ minor	+	—	—	—
Discocotyle sagittatum	+	—	—	—
Diplozoon paradoxum	+	+	—	+
Azygia lucii (= Dist. tereticolle)	+	+	—	+
Allocreadium isoporum	+	+	—	—
„ angusticolle	+	+	—	—
Crepidostomum farionis (= Dist. laureatum)	+	+	—	—
!Bunodera luciopercae (= Dist. nodulosum)	+	+	+	+
Asymphylodora tincae (= Dist. perlatum)	+	+	—	—
Asymphylodora ferruginosa	+	—	—	—
Phyllodistomum folium (= Dist. folium)	+	—	—	+
!Sphaerostomum bramae (= Dist. globiporum)	+	+	+	+
Distomum annuligerum	+	—	—	—
Diplostomum volvens	+	—	—	+
„ cuticula	+	—	+?	—
„ spec.	+	—	—	—
„ brevicaudatum	+	—	—	—
Tylodelphys clavata	+	—	—	—
Diplostomum cobitidis	+	—	—	—
Tetracotyle percae fluv.	+	—	—	+
„ ovata	+	—	—	—
Octocotyle lanceolata	—	+	—	—
Sporocystis cotti	—	—	—	+
Ascaris acus	+	+	+	+
„ truncatula	+?	—	+	+
„ labiata	—	—	+	+
„ cristata	+	—	—	—
„ obtusocaudata	—	—	+	—
„ adiposa	—	+	—	+
„ dentata	—	+	—	—
„ trigonura	—	+	—	—
„ adunca	—	+	—	—
„ clavata	—	+	—	—
„ phoxini (?)	+	—	—	—
„ gracillima (?)	+	—	—	—
„ spec.	—	+	—	—
Spiroptera tenuissima	+	—	+	+
!Cucullanus elegans	+	+	+	+
Filaria conoura	+	—	+	—
Ancryacanthus cystidicola	—	+	—	—
! „ denudatus	+	+	+	+
„ filiformis	+	—	+	+
Gordius aquaticus	—	—	—	+
Agamonema capsularia	—	+	—	+
„ commune	—	+	—	—

Name des Parasiten	Bodensee	Rhein	Vierwaldstättersee	Genfersee
Ichthyonema sanguineum	—	+	+	—
„ ovatum	+	—	+	+
Nematoxys tenerrimus	—	—	+	—
Ascaris spec. larva	+	—	—	—
Nematodenlarven	—	—	+	—
!Pomphorhynchus laevis (= Echinorhynchus proteus)	+	+	+	+
Echinorhynchus Linstowi	—	+	—	—
!Acanthocephalus lucii (= Ech. angustatus)	+	+	+	+
!Neorhynchus rutili (= Ech. clavaeceps)	+	+	+	+
Echinorhynchus clavula	—	—	+	—
Acanthocephalus anguillae (= Ech. globulosus)	+	+	—	—
Echinorhynchus spec.	—	+	—	—
Piscicola geometra	+	+	+	—
Ichthyobdella respirans	—	+	—	—
Ergasilus Sieboldi	+	—	+	+
„ trisetaceus	+	—	—	—
Argulus foliaceus	+	—	—	—
Achtheres coregoni	+	—	—	—
Basanistes coregoni	+	—	—	—

Daraus folgt zunächst ein interessantes Ergebnis: 16 Parasitenspezies (in der Zusammenstellung mit einem ! gekennzeichnet) sind in allen 4 Gewässern anzutreffen; Nufer hat die gleichen 16 Spezies als gemeinsamen Grundstock von Rhein, Vierwaldstättersee und Genfersee festgestellt und auf Grund desen diese Spezies als Grundstock der Parasitenfauna der Süßwasserfische überhaupt hingestellt. Durch die Ergebnisse aus dem Bodensee findet diese Behauptung ihre volle Bestätigung.

Auffällig ist besonders die starke Verbreitung der monogenetischen Kiementrematoden Gyrodactylus, Dactylogyrus und Ancyrocephalus im Bodensee. Davon sind vertreten im Rhein und Vierwaldstättersee nur Gyrodactylus (elegans), im Vierwaldstättersee außerdem die Gattung Dactylogyrus (crucifer? oder mehrere Spezies?). Die Feststellung dieses Trematoden in Ostpreußen, Mitteldeutschland und im Bodensee läßt eigentlich ihre weitere Verbreitung auch in den übrigen Schweizer Seen erwarten.

Folgende Tabelle zeigt die Verteilung der Fischparasiten in den 4 Gewässern nach Ordnungen zusammenbefaßt:

Name des Gewässers	Trematoden	Cestoden	Nematoden	Acanthocephalen
Bodensee	33	11	13	4
Vierwaldstättersee	5	12	12	4
Genfersee	11	11	10	3
Rhein	9	10	8	6

Die rein marinen Formen des Rheins, durch Wanderfische eingeschleppt, sind dabei außer acht geblieben.

Dabei ist immer zu berücksichtigen, daß die vorliegenden Ergeb-

nisse des Bodensees kein erschöpfendes Bild bieten, daß vielmehr bei späteren Untersuchungen sich die Zahl der Parasiten sicher erhöht.

Die Myxosporidien sind bei den obigen Zusammenfassungen nicht einbezogen worden; denn über die Myxosporidien des Genfersees und des Rheins liegt bis jetzt keine zusammenfassende Arbeit vor.

Unter Berücksichtigung der Arbeiten von Auerbach und Kudo ergeben sich für die 4 Gewässer folgende Zahlen:

Bodensee	mit 26	Myxosporidienspecies
Vierwaldstättersee	„ 12	„
Genfersee	„ 4	„
Rhein	„ 15	„

Die einzige Spezies, die in allen 4 Gewässern vorkommt, ist Myxobolus Mülleri Bütschli, die wohl in allen Flußgebieten Europas auftritt. Nur im Vierwaldstättersee ist bis jetzt nicht nachgewiesen Myxobolus exiguus Thélohan, dessen Verbreitungsgebiet in Europa ebenfalls sehr groß ist. Henneguya Zschokkei, dessen Auftreten immer an das Vorkommen von Coregonen gebunden ist, fehlt nur im Rhein.

4. Verzeichnis der gefundenen Parasiten

a) nach Wirten geordnet.

1. Perca fluviatilis L.
   - Bunodera luciopercae O. F. Müll.
   - Diplostomum volvens v. Nordm.
   - Tylodelphys clavata v. Nordm.
   - Tetracotyle percae fluv. v. Linstow.
   - Cyathocephalus truncatus Pall.
   - Triaenophorus nodulosus Pall.
   - Abothrium crassum Bloch.
   - Ichthyotaenia longicollis Rud.
   - Ichthyotaenia torulosa Batsch.
   - Ichthyotaenia percae O. F. Müll.
   - Acanthocephalus lucii Müll.
   - Ichthyonema sanguineum Rud.
   - Cucullanus elegans Zed.
   - Myxobolus piriformis Thél.?
   - Myxobolus permagnus Weg.
   - Henneguya similis n. spec.
   - Ergasilus Sieboldi v. Nordm.
   - Piscicola geometra Bl.
2. Lucioperca sandra Cuv.
   - Bunodera lucipercae O. F. Müll.
   - Diplostomum volvens v. Nordm.
   - Tylodelphys clavata v. Nordm.
3. Cottus gobio L.
   - Gyrodactylus elegans v. Nordm.
   - Allocreadium angusticolle Hausm.
   - Crepidostomum farionis Müll.
   - Bunodera luciopercae Müll.
   - Diplostomum volvens v. Nordm.
   - Diplostomum cobitidis v. Linst.
   - Tylodelphys clavata v. Nordm.
   - Abothrium crassum Bloch.
   - Ichthyotaenia longicollis Rud.
   - Ascaris acus Bloch.
   - Pomphorhynchus laevis Müll.
4. Lota vulgaris Cuv.
   - Gyrodactylus elegans v. Nordm.
   - Diplostomum volvens v. Nordm.
   - Diplostomum brevicaudatum v. N.
   - Tylodelphys clavata v. Nordm.
   - Cyathocephalus truncatus Pall.
   - Triaenophorus nodulosus Pall.
   - Diphyllobothrium latum L. larva.
   - Abothrium crassum Bloch.
   - Ichthyotaenia torulosa Batsch?
   - Ichthyotaenia percae Müll.
   - Ascaris acus Bloch.
   - Ascaris truncatula Rud.?
   - Spiroptera tenuissima Rud.
   - Spiroptera conoura v. Linst.
   - Cucullanus elegans Zed.
   - Neorhynchus rutili Müll.
   - Acanthocephalus lucii Müll.
   - Pomphorhynchus laevis Müll.
   - Sphaerospora elegans Thél.
   - Myxidium Lieberkühni Bütsch.
   - Chloromyxum dubium Auerb.
   - Myxobolus Mülleri Bütsch.
   - Piscicola geometra Bl.
5. Anguilla vulgaris L.
   - Ichthyotaenia spec. (macroceph.?).
   - Acanthocephalus lucii Müll.
6. Trutta lacustris L.
   - Diplostomum volvens v. Nordm.
   - Abothrium crassum Bl.
   - Diphyllobothrium latum L. larva.
   - Cucullanus elegans Zed.
   - Neorhynchus rutili Müll.
   - Ergasilus Sieboldi v. Nordm.
7. Salmo salvelinus L.
   - Ancyrocephalus spec.
   - Abothrium crassum Bl.
   - Pomphorhynchus laevis Müll.
   - Chloromyxum spec. (?).
   - Henneguya salvelini Zandt.
8. Thymallus vulgaris Nils.
   - Crepidostomum farionis Müll.
   - Allocreadium isoporum Lss.

Bunodera luciopercae Müll.
Sphaerostomum bramae Müll.
Diplostomum volvens v. Nordm.
Tylodelphys clavata v. N.
Diphyllobothrium latum L. larva.
Abothrium crassum Bl.
Ichthyotaenia longicollis R.
Spiroptera tenuissima Rud.
Neorhynchus rutili Müll.
Chloromyxum incertum n. sp.
Verirrt: Strigea strigis Gm.

9. Coregonus Wartmanni Bloch.
Discocotyle sagittatum F. S. Leuk.
Diplostomum volvens v. N.
Abothrium crassum Bl.
Ichthyotaenia longicollis Rud.
Myxobolus (?) spec.
Henneguya Zschokkei Dofl.
Ergasilus Sieboldi v. Nordm.
Achtheres coregoni Baum.
Basanistes coregoni Neresh.

10. Coregonus macrophthalmus Nüssl.
Discocotyle sagittatum F. S. Leuk.
Diplostomum volvens v. N.
Tylodelphys clavata v. N.
Ichthyotaenia longicollis Rud.
Pomphorhynchus laevis Müll.
Myxobolus Mülleri Bütsch.
Myxobolus piriformis Thél.
Myxobolus (?) spec.
Henneguya Zschokkei Dofl.
Ergasilus Sieboldi v. Nordm.
Achtheres coregoni Baum
Basanistes coregoni Neresh.
Piscicola geometra Bl.

11. Coregonus maraena Bloch.
Discocotyle sagittatum F. S. Leuk.
Tylodelphys clavata v. N.
Ichthyotaenia longicollis Rud.
Myxobolus exiguus Thél.
Myxobolus sphaeralis Thél.
Ergasilus Sieboldi v. Nordm.

12. Coregonus fera Jur.
Discocotyle sagittatum F. S. Leuk.
Diplozoon paradoxum v. Nordm.
Diplostomum volvens v. Nordm.
Diplostomum spec.
Tylodelphys clavata v. Nordm.
Cyatocephalus truncatus Pall.
Ichthyotaenia longicollis Rud.
Ichthyotaenia percae Müll.
Ergasilus Sieboldi v. N.
Achtheres coregoni Baum.
Myxobolus exiguus Thél.
Myxobolus (?) spec.

13. Coregonus acronius Rapp.
Discocotyle sagittatum F. S. Leuk.
Diplostomum volvens v. N.
Tylodelphys clavata v. N.
Cyathocephalus truncatus Pall.
Ichthyotaenia longicollis Rud.
Myxobolus exiguus Thél.
Ergasilus Sieboldi v. N.
Basanistes coregoni Neresh.

14. Tinca vulgaris Cuv.
Asymphylodora tincae Mod.
Asymphylodora ferrugin. v. Linst.
Ergasilus Sieboldi v. N.

15. Barbus fluviatilis Ag.
Allocreadium isoporum Lss.
Diplostomum volvens v. N.
Tylodelphys clavata v. N.
Abothrium crassum Bloch.
Neorhynchus rutili Müll.
Acanthocephalus anguillae Müll.
Acanthocephalus lucii Müll.
Pomphorhynchus laevis Müll.
Ergasilus Sieboldi v. N.
Argulus foliaceus L.

16. Phoxinus laevis Ag.
Diplozoon paradoxum v. Nordm.
Diplostomum volvens v. N.
Tetracotyle ovata v. Linst.
Ascaris phoxini v. Linst. (?).
Ergasilus Sieboldi v. N.

17. Squalius cephalus L.
Dactylogyrus parvus Weg.
Dactylogyrus difformis Wag.
Allocreadium isoporum Lss.
Sphaerostomum bramae Müll.
Diplostomum volvens v. N.
Tylodelphys clavata v. N.
Abothrium crassum Bl.
Ichthyotaenia spec. larva.
Cucullanus elegans Zed.
Neorhynchus rutili Müll.
Pomphorhynchus laevis Müll.
Chloromyxum fluviatile Thél.
Myxobolus Mülleri Bütsch.
Myxobolus ellipsoides Thél.
Myxobolus gigas Auerb.
Ergasilus Sieboldi v. N.

18. Leuciscus leuciscus L.
Diplozoon paradoxum v. N.
Phyllodistomum folium v. Olf.
Sphaerostomum bramae Müll.
Diplostomum volvens v. N.
Tylodelphys clavata v. N.
Caryophyllaeus laticeps Pall.
Ichthyotaenia longicollis R.
Pomphorhynchus laevis Müll.
Chloromyxum spec. n. sp.
Myxidium macrocapsulare Auerb.
Ergasilus Sieboldi v. N.

19. Leuciscus rutilus L.
Ichthyophthirius multifiliis F.
Diplozoon paradoxum v. N.
Dactylogyrus crucifer Wg.
Dactylogyrus fallax Wag.
Dactylogyrus sphyrna v. Linst.
Dactylogyrus similis Weg.
Allocreadium isoporum Lss.
Sphaerostomum bramae Müll.
Phyllodistomum folium v. Olf.
Diplostomum volvens v. N.
Diplostomum cuticula v. N.
Tylodelphys clavata v. N.
Caryophyllaeus laticeps Pal.
Ligula intestinalis L.
Ichthyotaenia longicollis Rud.
Ascaris spec. larva.
Cucullanus elegans Zed.

Neorhynchus rutili Müll.
Myxidium macrocapsulare Auerb.
Myxobolus cycloides Gurl.

20. Scardinius erythrophthalmus L.
Diplozoon paradoxum v. N.
Dactylogyrus fallax Wag.
Diplostomum volvens v. N.
Tylodelphys clavata v. N.
Ascaris spec. larva.

21. Abramis brama L.
Cyclochaeta Domerguei W.
Diplozoon paradoxum v. N.
Gyrodactylus spec.
Dactylogyrus crucifer Wag.
Sphaerostomum bramae Müll.
Diplostomum volvens v. N.
Tylodelphys clavata v. N.
Caryophyllaeus laticeps Pall.
Myxobolus ellipsoides Thél.
Myxobolus cycloides Gurl.
Ichthyotaenia torulosa Batsch.

22. Blicca bjoerkna L.
Diplozoon paradoxum v. N.
Dactylogyrus crucifer Wag.
Dactylogyrus difformis Wag.
Sphaerostomum bramae Müll.
Diplostomum volvens v. N.
Tylodelphys clavata v. N.
Caryophyllaeus laticeps Pall.
Ascaris spec. larva.
Ichthyonema ovatum Dies.
Myxobolus Mülleri Bütsch.
Myxobolus ellipsoides Thél.
Myxobolus cycloides Gurl.

23. Alburnus lucidus L.
Gyrodactylus gracilis Kathar.
Dactylogyrus crucifer Wag.
Dactylogyrus minor Wag.
Dactylogyrus alatus v. Linstow.
Allocreadium isoporum Lss.
Diplostomum volvens v. N.
Tylodelphys clavata v. N.
Caryophyllaeus laticeps Pall.
Ligula intestinalis L.
Ichthyotaenia longicollis Rud.
Ichthyotaenia torulosa Batsch.
Ancryacanthus denudatus Dies.
Ancryacanthus filiformis Zsch.
Myxidium macrocapsulare Auerb.
Myxobolus mülleri Bütsch.
Myxobolus cycloides Gurl.
Chloromyxum spec. n. sp.

24. Cobitis barbatula L.
Gyrodactylus elegans v. N.
Diplostomum cobitidis v. Linst.
Ascaris gracillima v. Linst. (?).

25. Esox lucius L.
Ancyrocephalus monenteron Wag.
Bunodera luciopercae Müll.
Azygia lucii Müll.
Diplostomum volvens v. N.
Tylodelphys clavata v. N.
Abothrium crassum Bloch.
Triaenophorus nodulosus Pall.
Ascaris acus Bloch.
Ascaris cristata v. Linst.
Cucullanus elegans Zed.
Myxidium Lieberkühni Bütsch.
Myxosporidienartiger Nierenparasit (nach Weißenberg).
Henneguya lobosa Cohn.
Henneguya psorosp. typica Cohn.
Henneguya peri-intestinalis Cép.
Henneguya anura Cohn.
Glugea spec.
Ergasilus Sieboldi v. N.
Piscicola geometra Bl.

26. Silurus glanis L.
Ancyrocephalus siluri n. spec.
Diplostomum volvens v. N.
Ichthyotaenia osculata Göze.
Abothrium crassum Bloch.
Acanthocephalus lucii Müll.
Ergasilus Sieboldi v. N.
Ergasilus trisetaceus v. N.

b) nach Parasiten geordnet.

1. Ichthyophthirius multifiliis Fouquet.
Leuciscus rutilus L.

2. Cyclochaeta Domerguei Wall.
Abramis brama L.

3. Branchiomyces sanguinis Plehn.
Trutta lacustris L.

4. Discocotyle sagittatum F. S. Leuk.
Coregonus Wartmanni Bloch.
Coregonus maraena Bloch.
Coregonus macrophthalmus Nüssl.
Coregonus acronius Rapp.
Coregonus fera Jur.

5. Diplozoon paradoxum v. Nordm.
Coregonus fera Jur.
Phoxinus laevis Ag.
Leuciscus leuciscus L.
Leuciscus rutilus L.
Scardinius erythrophthalmus L.
Abramis brama L.
Blicca bjoerkna L.

6. Gyrodactylus elegans v. Nordm.
Cottus gobio L.
Lota vulgaris Cuv.
Abramis brama L. (?).
Cobitis barbatula L.

7. Gyrodactylus gracilis Kathariner.
Alburnus lucidus L.

8. Dactylogyrus sphyrna v. Linstow.
Leuciscus rutilus L.

9. Dactylogyrus alatus v. Linstow.
Alburnus lucidus L.

10. Dactylogyrus fallax Wag.
Leuciscus rutilus L.
Scardinius erythrophthalmus L.

11. Dactylogyrus difformis Wag.
Squalius cephalus L.
Blicca bjoerkna L.

12. Dactylogyrus minor Wag.
Alburnus lucidus L.

13. Dactylogyrus crucifer Wag.

Leuciscus rutilus L.
Abramis brama L.
Blicca bjoerkna L.
Alburnus lucidus L.

14. Dactylogyrus parvus Wegener.
Squalius cephalus L.

15. Dactylogyrus similis Wegener.
Leuciscus rutilus L.

16. Ancyrocephalus monenteron Wag.
Esox lucius L.

17. Ancyrocephalus siluri n. sp.
Silurus glanis L.

18. Ancyrocephalus spec. n. sp.
Salmo salvelinus L.

19. Azygia lucii O. F. Müll.
Esox lucius L.

20. Allocreadium isoporum Lss.
Thymallus vulgaris Nils.
Barbus fluviatilis Ag.
Squalius cephalus L.
Leuciscus rutilus L.
Alburnus lucidus L.

21. Allocreadium angusticolle Hausm.
Cottus gobio L.

22. Crepidostomum farionis O. F. Müll.
Cottus gobio L.
Thymallus vulgaris Nils.

23. Bunodera luciopercae O. F. Müll.
Perca fluviatilis L.
Lucioperca sandra Cuv.
Cottus gobio L.
Thymallus vulgaris Nils.
Esox lucius L.

24. Asymphylodora tincae Mod.
Tinca vulgaris Cuv.

25. Asymphylodora ferruginosa v. L.
Tinca vulgaris Cuv.

26. Phyllodistomum folium v. Olf.
Leuciscus rutilus L.
Leuciscus leuciscus L.

27. Sphaerostomum bramae O. F. Müll.
Thymallus vulgaris Nils.
Squalius cephalus L.
Leuciscus leuciscus L.
Leuciscus rutilus L.
Abramis brama L.
Blicca bjoerkna L.

28. Distomum annuligerum v. Nordm.
Perca fluviatilis L.

29. Diplostomum volvens v. Nordm.
Perca fluviatilis L.
Lucioperca sandra Cuv.
Cottus gobia L.
Lota vulgaris Cuv.
Trutta lacustris L.
(Trutta iridea Gibb.).
Thymallus vulgaris Nils.
Coregonus Wartmanni Bloch.
Coregonus macrophthalmus Nüss.
Coregonus acronius Rapp.
Coregonus fera Jur.
Barbus fluviatilis Ag.
Phoxinus laevis Ag.
Squalius cephalus L.
Leuciscus leuciscus L.
Leuciscus rutilus L.
Scardinius erythrophthalmus L.
Abramis brama L.
Blicca bjoerkna L.
Alburnus lucidus L.
Esox lucius L.
Silurus glanis L.

30. Diplostomum brevicaudatum v. N.
Lota vulgaris Cuv.

31. Diplostomum cuticula v. Nordm.
Leuciscus rutilus L. (Untersee).

32. Diplostomum (?) spec.
Coregonus fera Jur.

33. Diplostomum cobitidis v. Linstow.
Cottus gobio L.
Cobitis barbatula L.

34. Tylodelphys clavata v. Nordm.
Perca fluviatilis L.
Lucioperca sandra Cuv.
Cottus gobio L.
Lota vulgaris Cuv.
Thymallus vulgaris Nils.
Coregonus maraena Bloch.
Coregonus acronius Rapp.
Coregonus fera Jur.
Barbus fluviatilis Ag.
Squalius cephalus L.
Leuciscus leuciscus L.
Leuciscus rutilus L.
Scardinius erythrophthalmus L.
Abramis brama L.
Blicca bjoerkna L.
Alburnus lucidus L.
Esox lucius L.

35. Tetracotyle ovata v. Linstow.
Phoxinus laevis Ag.

36. Tetracotyle percae fluv. v. Linstow.
Perca fluviatilis L.

Verirrt: Strigea strigis Gmel.
Thymallus vulgaris Nils.

37. Caryophyllaeus laticeps Pall.
Leuciscus leuciscus L.
Leuciscus rutilus L.
Abramis brama L.
Blicca bjoerkna L.
Alburnus lucidus L.

38. Ligula intestinalis L.
Leuciscus rutilus L.
Alburnus lucidus L.

39. Diphyllobothrium latum L. larva.
Lota vulgaris Cuv.
Trutta lacustris L.
Thymallus vulgaris Nils.

40. Cyathocephalus truncatus Pall.
Perca fluviatilis L.
Lota vulgaris Cuv.
Coregonus fera Jur.
Coregonus acronius Rapp

41. Triaenophorus nodulosus Pall.
Perca fluviatilis L.
Lota vulgaris Cuv.
Esox lucius L.

42. Abothrium crassum Bloch.
Perca fluviatilis L.
Cottus gobio L.
Lota vulgaris Cuv.
Trutta lacustris L.

(Trutta iridea Gibb.).
Salmo salvelinus L.
Thymallus vulgaris Nils.
Coregonus Wartmanni Bloch.
Barbus fluviatilis Ag.
Squalius cephalus L.
Esox lucius L.
Silurus glanis L.

43. Ichthyotaenia osculata Goeze.
Silurus glanis L.

44. Ichthyotaenia longicollis Rud.
Perca fluviatilis L.
Thymallus vulgaris Nils.
Coregonus Wartmanni Bloch.
Coregonus macrophthalmus Nüss.
Coregonus maraena Bloch.
Coregonus acronius Rapp.
Coregonus fera Jur.
Leuciscus leuciscus L.
Leuciscus rutilus L.
Alburnus lucidus L.

45. Ichthyotaenia torulosa Batsch.
Perca fluviatilis L.
Lota vulgaris Cuv.
Coregonus Wartmanni Bloch.
Squalius cephalus L.
Abramis brama L.
Alburnus lucidus L.

46. Ichthyotaenia percae O. F. Müll.
Perca fluviatilis L.
Lota vulgaris Cuv.
Coregonus fera Jur.

47. Ichthyotaenia macrocephala Crepl.?
Anguilla vulgaris L.

48. Ascaris acus Block.
Cottus globio L.
Lota vulgaris Cuv.
Esox lucius L.

49. Ascaris cristata v. Linstow.
Esox lucius L.

50. Ascaris truncatula Rud.?
Lota vulgaris Cuv.

51. Ascaris phoxini v. Linstow?
Phoxinus laevis Ag.

52. Ascaris gracillima v. Linstow?
Cobitis barbatula L.

53. Spiroptera conoura v. Linst.
Lota vulgaris Cuv.

54. Spiroptera tenuissima Rud.
Lota vulgaris Cuv.
Thymallus vulgaris Nils.

55. Ancryacanthus denudatus Dies.
Alburnus lucidus L.

56. Ancryacanthus filiformis Zschokke.
Alburnus lucidus L.

57. Cucullanus elegans Zed.
Perca fluviatilis L.
Lota vulgaris Cuv.
Trutta lacustris L.
Leuciscus rutilus L.
Squalius cephalus L.
Esox lucius L.

58. Ascaris spec. larva.
Leuciscus rutilus L.
Blicca bjoerkna L.

59. Ichthyonema ovatum Dies.
Blicca bjoerkna L.

60. Ichthyonema sanguineum Rud.
Perca fluviatilis L.

61. Acanthocephalus anguillae Müll.
Barbus fluviatilis Ag.

62. Neorhynchus rutili Müll.
Lota vulgaris Cuv.
Trutta lacustris L.
Thymallus vulgaris Nils.
Barbus fluviatilis Ag.
Squalius cephalus L.
Leuciscus rutilus L.

63. Acanthocephalus lucii Müll.
Perca fluviatilis L.
Lota vulgaris Cuv.
Anguilla vulgaris L.
Barbus fluviatilis Ag.
Silurus glanis L.

64. Pomphorhynchus laevis Müll.
Cottus gobio L.
Lota vulgaris Cuv.
Salmo salvelinus L.
Coregonus macrophthalmus Nüss.
Barbus fluviatilis Ag.
Squalius cephalus L.
Leuciscus leuciscus L.

65. Sphaerospora elegans Thél.
Lota vulgaris Cuv.

66. Myxidium lieberkühni Bütschli.
Lota vulgaris Cuv.
Esox lucius L.

67. Myxidium macrocapsulare Auerb.
Leuciscus leuciscus L.
Leuciscus rutilus L.
Alburnus lucidus L.

68. Chloromyxum fluviatile Thél.
Squalius cephalus L.

69. Chloromyxum dubium Auerb.
Lota vulgaris Cuv.

70. Chloromyxum mucronatum Gurl.
Lota vulgaris Cuv. (nach Auerbach im Bodensee).

71. Chloromyxum spec. n. sp.
Leuciscus leuciscus L.
Alburnus lucidus L.

72. Chloromyxum incertum n. sp.
Thymallus vulgaris Nils.

73. Chloromyxum (?) spec.
Salmo salvelinus L.

74. Myxosporidienartiger Nierenparasit (nach Weißenberg).
Esox lucius L.

75. Myxobolus Mülleri Bütschli.
Lota vulgaris Cuv.
Coregonus macrophthalmus Nüss.
Squalius cephalus L.
Blicca bjoerkna L.
Alburnus lucidus L.

76. Myxobolus piriformis Thél.
Perca fluviatilis L.
Coregonus macrophthalmus N.
Barbus fluviatilis Ag. (Untersee).

77. Myxobolus ellipsoides Thél.
Squalius cephalus L.

Abramis brama L.
Blicca bjoerkna L.
78. Myxobolus exiguus Thél.
Coregonus maraena Bloch.
Coregonus acronius Rapp.
Coregonus fera Jur.
79. Myxobolus cycloides Gurl.
Leuciscus rutilus L.
Abramis brama L.
Blicca bjoerkna L.
Alburnus lucidus L.
80. Myxobolus sphaeralis Gurl.
Coregonus maraena Bloch.
81. Myxobolus gigas Auerb.
Squalius cephalus L.
82. Myxobolus permagnus Weg.
Perca fluviatilis L.
83. Myxobolus (?) spec.
Coregonus Wartmanni Bloch.
Coregonus macrophthalmus Nüss.
Coregonus fera Jur.
84. Henneguya psorosperm. typica Thél.
Esox lucius L.
85. Henneguya lobosa Cohn.
Esox lucius L.
86. Henneguya similis n. sp.
Perca fluviatilis L.
87. Henneguya peri-intestinalis Cépède.
Esox lucius L.
88. Henneguya salvelini Zdt.
Salmo salvelinus L.
89. Henneguya Zschokkei Dofl.
Coregonus Wartmanni Bloch.
Coregonus macrophthalmus Nüssl.
90. Glugea spec.
Esox lucius L.
91. Ergasilus Sieboldi v. Nordm.
Perca fluviatilis L.
Trutta lacustris L.
Thymallus vulgaris Nils.
Coregonus Wartmanni Bloch.
Coregonus macrophthalmus Nüss.
Coregona maraena Bloch.
Coregonus acronius Rapp.
Coregona fera Jur.
Tinca vulgaris Cuv.
Barbatus fluviatilis Ag.
Phoxinus laevis Ag.
Squalius cephalus L.
Leuciscus leuciscus L.
Silurus glanis L.
Esox lucius L.
92. Ergasilus trisetaceus v. Nordm.
Silurus glanis L.
93. Achtheres coregon. Baum.
Coregonus Wartmanni Bloch.
Coregonus macrophthalmus Nüss.
Coregonus fera Jur.
94. Basanistes coregoni Neresh.
Coregonus Wartmanni Bloch.
Coregonus macrophthalmus N.
Coregonus acronius Rapp.
95. Argulus foliaceus L.
Barbus fluviatilis Ag.
96. Piscicola geometra Bl.
Perca fluviatilis L.
Lota vulgaris Cuv.
Coregonus macrophthalmus Nüss.
Esox lucius L.

Nachtrag: 97. Henneguya anura Cohn.
Esox lucius L.

Literaturverzeichnis.

1) Auerbach, M., Die Cnidosporidien. 1910. — 2) Ders., Ein neuer Myxobolus im Brachsen (Abramis brama L.). (Zool. Anz. 1907.) — 3) Ders., Bemerkungen über Myxosporidien heimischer Süßwasserfische. (Ebenda. 1910.) — 4) Ders., Zwei neue Cnidosporidien aus cyprinoiden Fischen. (Ebenda. 1910.) — 5) Ders., Untersuchungen über Henneguya sporospermica Thél. (Verhandl. d. naturw. Ver. Karlsruhe. Bd. 24.) — 6) Barbieri, Ueber eine neue Spezies der Gattung Ichthyotaenia und ihre Verbreitungsweise. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. 1909.) — 7) Baumann, F., Parasitische Copepoden auf Coregonen. Ein Beitrag zur Kenntnis der parasitischen Copepoden der Schweiz. (Zool. Anz. 1912.) — 8) Bieler, Ueber den Kittapparat von Neorhynchus. Ebenda. 1913.) — 9) Brandes, G., Die Familie der Holostomiden. (Zool. Jahrb. 1891.) — 10) Ders., Zum feineren Bau der Trematoden. (Zeitschr. f. wiss. Zool. 1892.) — 11) Braun, M., Helminthologische Notizen. Zur Entwicklung der Holostomiden. (Centralbl. f. Bakt. 1894.) — 12) Bremser, Icones helminthum systema Rudolphi entozoologicum illustrantes. 1824.) — 13) Cépède, C., Myxosporidies des poissons des Alpes françaises. 1905.) — 14) Claparède, A., Ueber die Kalkkörperchen der Trematoden und die Gattung Tetracotyle. (Zeitschr. f. wiss. Zool. 1857.) — 15) Cohn, L., Ueber die Myxosporidien von Esox lucius und Perca fluviatilis. (Zool. Jahrb. Abt. f. Anat. 1895.) — 16) Diesing, C. M., Systema Helminthum. Vol. 1 u. 2. 1850/51.) — 17) Dujardin, Histoire naturelle des Helminthes. 1845. — 18) Fraipont, J., Recherches sur l'appareil excréteur des Trematodes et des Cestodes. (Arch. de Biol. T. 2. 1880.) — 19) Fuhrmann, O., L'évolution des Ténias et en particulier de la larve des Ichthyoténias. (Arch. d. sc. phys. et nat. T. 16. 1903.) — 20) Göze J. A., Versuch einer Naturgeschichte der Eingeweidewürmer tierischer Körper. 1782. — 21) Hamann, O., Die Nemathelminthen. Heft 1. Monographie der Acanthocephalen. Jen. Zeitschr. f. Naturw. 1891.) — 22) Hausmann, L., Ueber Trematoden der Süßwasserfische. (Rev. suisse de Zool. 1897.) — 23) Hofer, Handbuch der Fischkrankheiten. 1904. —

24) Janicki, C., Experimentelle Untersuchungen zur Entwicklung von Dibothriocephalus latus L. Ueber negative Versuche, junge Forellen, Hechte u. Barsche direkt mit Flimmerembryonen zu infizieren. (Centralbl. f. Bakt. 1917.) — 25) Janicki, C., und Rosen, F., Der Entwicklungszyklus von Dibothriocephalus latus L. Experimentelle Untersuchungen und Beobachtungen. (Correspond.-Bl. f. Schweizer Aerzte. 1917.) — 26) Janicki, C., Neue Studien über postembryonale Entwicklung und Wirtswechsel bei Bothriocephalen. 1. Triaenophorus nodulosus (Pall.). (Ebenda. 1918.) — 27) Ders., Neue Studien über postembryonale Entwicklung und Wirtswechsel bei Bothriocephalen. 2) Die Gattung Ligula. (Ebenda. 1919.) — 28) Kaiser, J. ., Die Acanthocephalen und ihre Entwicklung. (Zoologica. Vol. 7. 1892.) — 29) Kathariner, L., Die Gattung Gyrodactylus von Nordmann. (Arb. aus d. Zool. Inst. Würzburg. Bd. 10. 1893.) — 30) Katsurada, Studien über Trematodenlarven bei Süßwasserfischen, mit besonderer Berücksichtigung der Elb- und Alsterfische. (Centralbl. f. Bakt. u. Parasitenk. 1914.) — 31) Kraemer, A., Beiträge zur Anatomie und Histologie der Cestoden der Süßwasserfische. (Zeitschr. f. wiss. Zool. 1892.) — 32) Krause, Beitrag zur Kenntnis der Holostomiden. (Ebenda. 1915.) — 33) Kudo, R., Studies on Myxosporidia. (Biol. Stud. University of Illinois. 1920.) — 34) Labbé, A., Sporozoa. (Das Tierreich; Lief. 5. 1899.) — 35) Lebzelter, V., Ueber Protozoen aus der Gallenblase von Thymallus thymallus L. (Zool. Anz. 1912.) — 36) v. Linstow, Compendium der Helminthologie. 1878. — 37) Ders., Compendium der Helminthologie. Nachtrag. — 38) Ders., Beobachtungen an neuen und bekannten Helminthen. (Arch. f. Naturg. 1875.) — 39) Ders., Beobachtungen an bekannten und neuen Nematoden und Trematoden. (Ebenda. 1885.) — 40) Ders., Helminthologische Untersuchungen. (Zool. Jahrb. Abt. Syst. 1888.) — 41) Ders., Ueber den Bau und die Entwicklung von Taenia longicollis Rud. (Jen. Zeitschr. f. Naturw. 1891.) — 42) Ders., Zur Anatomie und Entwicklungsgeschichte der Tänien. (Arch. f. mikr. Anat. 1893.) — 43) Ders., Parasitische Nematoden. (Süßwasserfauna Deutschlands [Brauer], H. 15. 1909.) — 44) Lühe M., Acanthocephalen. (Ebenda. H. 16. 1911.) — 45) Ders., Trematodes. Parasitische Plattwürmer. 1. (Ebenda. H. 17. 1909.) — 46) Ders., Cestodes. Parasitische Plattwürmer. 2. (Ebenda. H. 18. 1910.) — 47) Lutz, A., Zur Kenntnis des Entwicklungszyklus der Holostomiden. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 86. 1921.) — 48) Mataré, F., Ueber eine Tetracotyle im Hirn von Phoxinus laevis. 1909. — 49) Mola, P., Die Parasiten des Cottus gobio L. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 65. 1912.) — 50) Mrazek, A., Cestodenstudien 1 u. 2. (Zool. Jahrb. f. Syst. 1907, und ebenda f. Anat. 1916.) — 58) Mühling, P., Die Helminthenfauna der Wirbeltiere Ostpreußens. (Arch. f. Naturg. 1898.) — 52) Neresheimer, E., Studien über Süßwasser-Lernäopodiden. (Ber. aus d. Kgl. Bayr. Biol. Versuchsstation München. 1909.) — 53) Ders., Die parasitischen Copepoden. (Süßwasserfauna Deutschlands. H. 11. T. 2.) — 54) Nenning, St., Die Fische des Bodensees nach ihrer äußeren Erscheinung. Konstanz 1834. — v. Nordmann, Mikrogr. Beiträge zur Naturgeschichte der wirbellosen Tiere 1 und 2. 1832. — 56) Nufer, W., Die Fische des Vierwaldstättersees und ihre Parasiten [Dissert.]. 1905. — 57) Nybelin, O., Zur Frage der Entwicklungsgeschichte einiger Bothriocephaliden. Göteborg 1917. — 58) Plehn, M., Eine neue Karpfenkrankheit und ihr Erreger Branchiomyces sanguinis. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd 62. 1912) — 59) Piesbergen, F., Die Ekto- und Entoparasiten, von welchen die in der Umgebung von Tübingen lebenden Fische bewohnt werden. (Jahresh. d. Ver. f. vaterl. Naturk. Württemberg. 1886.) — 60) Prenant, A., Recherches sur les vers parasites des poisson. (Bull. de la soc. des sc. de Nancy. 1885.) — 61) Riggenbach, E., Das Genus Ichthyotaenia. (Rev. suisse de Zool. 1896.) — 62) la Rue George, A Revision of the Cestode family Proteocephalidae. (Zool. Anz. 1911.) — 63) Rudolphi, Entozoorum synopsis. 1819. — 64) Roth, W., Ueber den grauen Star bei den Fischen. (Natur und Haus.) 1904.) — 65) Salzer, F., Anatomische Untersuchungen über den Wurmstar der Fische. (Arch. f. Augenheilkunde. 1907.) — 66) Surbeck, G., Die Furunkulose der Fische in freien Gewässern. (Schweiz. Fischereizeitung. 1911.) — 67) Ders., Ueber eine eigenartige Form des Auftretens von Henneguya Zschokkei Gurley. 1912. — 68) Schneider, A., Monographie der Nematoden. 1866. — 69) Schneider, G., Ichthyologische Beiträge. (Act. soc. pro fauna et flora fennica 22/23. 1901—1902.) — 70) Voigt, M., Beiträge zur Kenntnis des Vorkommens von Fischparasiten in den Plöner Gewässern. (Forsch.-Ber. d. biol. Stat. in Plön. Bd. 10. 1903.) — 71) Wagener, G. R., Die Entwicklung der Cestoden. (Verhandl. der Kais. Leop.-Carol. Akad. d. Naturforscher. Bd. 24. Suppl. 1854.) — 72) Wagner, O., Ueber Entwicklungsgang und Bau einer Fischtänie (Ichthyotaenia torulosa Batsch). (Jen. Zeitschr. f.

Naturw. 1917.) — 73) Wegener, G., Die Ektoparasiten der Fische Ostpreußens. (Aus dem Zool. Museum der Universität Königsberg. 1910.) — 74) Weißenberg, Ueber einen myxosporidienartigen intrazellulären Glomerulusparasiten der Hechtniere. (Zool. Anz. 1922.) — 75) Wolf, E., Beiträge zur Entwicklungsgeschichte von Cyathocephalus truncatus Pallas. (Zool. Anz. 1906.) — 76) Zacharias, O., Mitteilungen über gelegentlich aufgefundene Parasiten der Fischfauna von Plön. (Forsch.-Ber. aus d. biol. Stat. zu Plön. 1903.) — 77) Zschokke, F., Recherches sur l'organisation et la distribution zoologique des vers parasites des poissons d'eau douce. (Arch. de Biol. T. 5. 1884.) — 78) Ders., Die Parasiten unserer Süßwasserfische. (In: Zacharias, Das Tier- und Pflanzenleben des Süßwassers. 1891.) — 79) Ders., Zur Faunistik der parasitischen Würmer von Süßwasserfischen. (Centralbl. f. Bakt. u. Parasitenk. 1896.)

Nachdruck verboten.

Zweite Mitteilung über die Bakterizidiefestigkeit des Tuberkelbazillus.

[Aus dem Bakteriol. Laborat. der Nippon med. Hochschule zu Mukden.]

Von Prof. **Hidezo Toyoda** und **Yung-nen Yang.**

Ueber die Beziehung des bakterizidiefesten Tuberkelbazillus zur Tuberkuloseimmunität haben wir (1) früher mitgeteilt, daß bei tuberkulösen Tieren, die mit einer kleinen Menge von Drüsenaufschwemmung eines tuberkulösen Meerschweinchens reinfiziert wurden, sich an den Reinfektionsstellen Ulzerationen bilden, wie bei der 1. Impfung, nicht aber bei tuberkulösen Tieren, die mit Kulturbazillen reinfiziert wurden. Daraus konnten wir schließen, daß die im tierischen Organismus gewachsenen Tuberkelbazillen bakterizidiefest sind. Hierzu wurden von uns folgende weitere Untersuchungen ausgeführt:

I. Bakterizidiefestigkeit der aus einer Drüse möglichst rein isolierten Tuberkelbazillen.

In der 1. Arbeit haben wir Gewebsaufschwemmungen, in denen Tuberkelbazillen enthalten waren, zur Reinfizierung benutzt. Wenn ein Stoff, wie Aggressin, in den Flüssigkeiten enthalten ist, so ist es denkbar, daß die Bazillen mit Hilfe dieses Stoffes reinfizieren können, wenn sie auch selbst keine Bakterizidiefestigkeit besitzen. Wir haben deswegen, um festzustellen, ob die Tuberkelbazillen, die aus Geweben möglichst rein isoliert werden, ebenso wie mit der Gewebsaufschwemmung reinfizieren können, folgende Untersuchung ausgeführt.

Die Milz eines tuberkulösen Meerschweinchens, bei dem 4 Wochen nach der Infizierung vergangen waren, wurde exstirpiert, in einem Mörser unter Zusatz von physiol. Kochsalzlösung fein zerrieben, und daraus eine Gewebsaufschwemmung, in der sich 1—5 Tuberkelbazillen in jedem Gesichtsfelde befanden, bereitet. Indem einerseits je 0,4 ccm von dieser Flüssigkeit zwei tuberkulösen Meerschweinchen,

bei denen 4 Wochen seit der Impfung vergangen waren, subkutan eingespritzt wurden, um die Bakterizidiefestigkeit der Tuberkelbazillen in der Flüssigkeit festzustellen, wurde andererseits gleichzeitig folgende Prüfung ausgeführt: 2 ccm der Flüssigkeit wurden 20proz. Antiforminwasserlösung zugesetzt. Diese Mischung wurde unter häufigem Schütteln 20 Min. bei Zimmertemp. gehalten, um die im Wasser unlöslichen Gewebsbestandteile in ihr zu lösen. Dann wurde sie zentrifugiert und der Bodensatz, der aus Tuberkelbazillen bestand, unter Zusatz von physiol. Kochsalzlösung gewaschen, alsdann in 2 ccm Kochsalzlösung aufgeschwemmt. Mit je 0,4 ccm der Aufschwemmung wurden 2 tuberkulöse Meerschweinchen, bei denen 4 Wochen nach der Impfung mit den Kulturbazillen vergangen waren, reinfiziert, um festzustellen, ob die von dem Gewebe fast frei gemachten Tuberkelbazillen auch subinfizieren können. (Alle Versuchstiere wurden in der Weise vorbehandelt, daß ihnen 4 Wochen vor diesen Versuchen je $^1/_{100}$ mg Tuberkelbazillen subkutan in die Bauchgegend eingespritzt wurde.)

		Lokaler Befund nach		
		1 Woche	2 Wochen	3 Wochen
tuberk. Tiere	Nr. 50 mit der Gewebsaufschwemmung infiziert	ein erbsengroßer Knoten	ein daumenkopfgroßer Knoten	aufgebrochen
	Nr. 51 desgl.	desgl.	desgl.	desgl.
ges. Tiere	Nr. 77 desgl.	keine Veränderung	ein zeigefingerspitzengroßer Knoten	desgl.
	Nr. 78 desgl.	ein erbsengroßer Knoten	desgl.	desgl.
tuberk. Tiere	Nr. 79. mit den gewebefreien Bazillen infiziert	ein zeigefingerkopfgroßer Knoten	aufgebrochen	mit einer Kruste bedeckt
	Nr. 80 desgl.	ein erbsengroßer Knoten	desgl.	desgl.
ges. Tier	Nr. 81 dgl.	eine kleine Infiltration	ein erbsengroßer Knoten	ein zeigefingerspitzengroßer Knoten

Daraus geht hervor, daß die Tuberkelbazillen, die durch Antiforminbehandlung und Zentrifugierung aus dem Gewebe frei gemacht wurden, auch subinfizieren können. Das heißt: bei der Subinfizierungsfähigkeit der Tuberkelbazillen aus dem Gewebe handelt es sich nicht um eine Mischung des Gewebes und seines Saftes, sondern um ihre Bakterizidiefestigkeit.

II. Die zum Bakterizidiefestwerden erforderliche Zeit.

Wir haben in der vorigen Arbeit festgestellt, daß die Tuberkelbazillen, die sich 4 Wochen lang im Tierkörper aufgehalten hatten, tuberkulöse Tiere, bei denen 4 Wochen nach der Infizierung vergangen waren, subinfizieren können. Toyoda (2) und Tsuru haben mitgeteilt, daß Rotzbazillen, die sich 14 Tage lang im Tierkörper aufgehalten hatten, schon nicht mehr rotzkranke Tiere, bei denen

18 Tage seit der Infizierung verlaufen waren, subinfizieren konnten, ebenso wenig wie die Kulturbazillen. Wir haben deswegen folgende Untersuchung ausgeführt, um festzustellen, ob man dieselbe Tatsache auch bei Tuberkelbazillen nachweisen kann. 2 Meerschweinchen wurde je $^1/_{100}$ mg Kulturbazillen subkutan in die Bauchgegend eingespritzt. Die Impfstellen wurden bei dem einen Tier nach 2 Wochen und bei dem anderen nach 3 Wochen ausgeschnitten, und daraus Gewebsaufschwemmungen, die 1—3 Tuberkelbazillen in einem Gesichtsfelde enthielten, gewonnen. Je 0,4 ccm hiervon wurde tuberkulösen Tieren, bei denen 4 Wochen seit der Impfung mit Kulturbazillen verlaufen waren, subkutan eingespritzt, um festzustellen, ob die Bazillen in den Aufschwemmungen subinfizieren können.

		Lokaler Befund nach		
		1 Woche	2 Wochen	3 Wochen
tuberk. Tier	Nr. 72 mit Bazillen infiz.. die sich 2 Wochen im Tierkörper aufgehalten hatten	ein kleiner Knoten	zeigefingerspitzengroßer Knoten	aufgebrochen
ges. Tier	Nr. 73 desgl.	keine Veränderung	ein erbsengroßer Knoten	ein zeigefingerspitzengroßer Knoten
tuberk. Tiere	Nr. 74 mit Bazillen infiz, die sich 3 Wochen im Tierkörper aufgehalten hatten	ein kleiner Knoten	desgl.	desgl.
	Nr. 75 desgl.	desgl.	desgl.	aufgebrochen
ges. Tier	Nr. 76 desgl.	keine Veränderung	desgl.	desgl.

Daraus geht hervor, daß Tuberkelbazillen, die 2 oder 3 Wochen im Tierkörper verweilt hatten, so starke Bakterizidiefestigkeit besitzen, daß sie tuberkulöse Tiere, bei denen 4 Wochen nach der Infizierung verlaufen sind, subinfizieren können. Diese Tatsache steht also im Gegensatz zu dem Resultat der Arbeit über den Rotzbazillus. Wir können auch auf Grund dieses Ergebnisses vermuten, daß die Tuberkuloseimmunität nur im Anfang der Infizierung schnell steigt, oder daß die Bakterizidiefestigkeit bedeutend schneller und stärker zunimmt als die Immunität des Tieres, weil man die starke Bakterizidiefestigkeit des Tuberkelbazillus schon im Anfang der Infizierung nachweisen kann.

III. Beziehung der Ueberimpfung auf künstliche Nährböden zur Bakterizidiefestigkeit.

Wie wir schon früher mitgeteilt haben, konnte man bei den sehr lange auf künstlichen Nährböden fortgeimpften Tuberkelbazillen keine Bakterizidiefestigkeit nachweisen. Daher kann man annehmen, daß die Bakterizidiefestigkeit der Bazillen durch Kultivierung auf künstlichen Nährböden verschwindet, doch wissen wir nicht, durch wievielmaliges Ueberimpfen diese Eigenschaft verschwindet.

Einem mit Tuberkelbazillen geimpften Meerschweinchen wurde

eine geschwollene Inguinaldrüse 28 Tage nach der Impfung exstirpiert und zerschnitten. Daraus wurden Tuberkelbazillen auf Eigelbnährböden, bei denen Eigelb mit Glyzerinbouillon gemischt und erhitzt wurde, überimpft, um die Beziehung der Ueberimpfung auf künstliche Nährböden zur Bakterizidiefestigkeit zu prüfen. Demnächst wurde daraus eine Gewebsaufschwemmung hergestellt, und mit je 0,4 ccm derselben wurden 4 tuberkulöse Tiere, bei denen 4 Wochen nach der Infizierung verlaufen waren, subkutan in der Bauchgegend auf der der ersten Impfung entgegengesetzten Seite reinfiziert, um die Bakterizidiefestigkeit der Bazillen im Gewebe festzustellen. In der Flüssigkeit befanden sich 2—5 Tuberkelbazillen in jedem Gesichtsfelde.

Auf der Kultur trat nach 2 Wochen ein ziemlich üppiges Wachstum ein. Daraus wurde einerseits eine Subkultur und andererseits eine Bazillenemulsion hergestellt. Die Emulsion wurde mit physiologischer Kochsalzlösung so verdünnt, daß man 2—5 Keime in einem Gesichtsfelde beobachten konnte. Mit je 0,4 ccm hiervon wurden tuberkulöse Tiere, bei denen 4 Wochen nach der Infizierung verstrichen waren, auf die erwähnte Weise reinfiziert. Die Subkultur wurde nach einer Woche ebenso wie die Originalkultur geprüft.

Die Versuchsergebnisse sind in folgender Tabelle zusammengestellt.

		Lokaler Befund nach		
		1 Woche	2 Wochen	3 Wochen
tuberk. Tiere	Nr. 1 mit der Gewebsaufschwemmung infiziert	ein kleiner Knoten	ein erbsengroßer Knoten	aufgebrochen
	Nr. 2 desgl.	desgl.	desgl.	desgl.
	Nr. 3 desgl.	desgl.	ein zeigefingerspitzengroßer Knoten	desgl.
	Nr. 4 desgl.	desgl.	desgl. m. Aufbruch	desgl.
ges. Tiere	Nr. 5 desgl.	eine kleine Infiltration	ein erbsengroßer Knoten	desgl.
	Nr. 6 desgl.	desgl.	ein zeigefingerspitzengroßer Knoten	desgl.
tuberk. Tiere	Nr. 7 mit einmaliger Kultur infiziert	keine Veränderung	keine Veränderung	keine Veränderung
	Nr. 8 desgl.	desgl.	desgl.	desgl.
	Nr. 9 desgl.	desgl.	desgl.	desgl.
	Nr. 10 desgl.	desgl.	desgl.	desgl.
ges. Tiere	Nr. 11 desgl.	desgl.	ein kleiner Knoten	ein erbsengroßer Knoten mit Aufbruch
	Nr. 12 desgl.	desgl.	desgl.	ein erbsengroßer Knoten
tuberk. Tiere	Nr. 13 mit zweimaliger Kultur infiz.	keine Veränderung	keine Veränderung	keine Veränderung
	Nr. 14 desgl.	desgl.	desgl.	desgl.
	Nr. 15 desgl.	desgl.	desgl.	desgl.
	Nr. 16 desgl.	desgl.	desgl.	desgl.
ges. Tiere	Nr. 17 desgl.	desgl.	ein kleiner Knoten	ein zeigefingerspitzengroßer Knoten mit Aufbruch
	Nr. 18 desgl.	desgl.	desgl.	desgl.

Aus diesen Versuchen ergibt sich, daß die Tuberkelbazillen auf künstlichem Nährboden durch nur einmalige Kultivierung schon ihre Bakterizidiefestigkeit verlieren, weil die aus dem Gewebe gewonnenen Kulturbazillen nicht reinfizieren konnten, wie man bei den Versuchstieren Nr. 7, 8, 9 und 10 sieht, während die Bazillen in der Gewebsaufschwemmung es konnten, wie die Tiere Nr. 1, 2, 3 und 4 zeigen. Ferner ersehen wir daraus, daß die Bakterizidiefestigkeit eine Eigenschaft ist, die sich im Tierkörper zum Schutz gegen die Bakterizidiewirkung bildet.

IV. Beziehung der Tierpassage zur Bakterizidiefestigkeit.

Wir haben versucht, festzustellen, ob sich die Bakterizidiefestigkeit durch die Tierpassage verliert, wie bei der Ueberimpfung auf künstliche Nährböden. Der Versuch wurde folgendermaßen vorgenommen: Einem Meerschweinchen wurden Kulturbazillen subkutan in die Bauchgegend eingespritzt. Nach 4 Wochen wurde eine geschwollene Inguinaldrüse exstirpiert und daraus auf die schon beschriebene Weise eine Gewebsaufschwemmung gewonnen. Einerseits wurde je 0,4 ccm der Flüssigkeit zwei tuberkulösen Tieren, bei denen 4 Wochen nach der Impfung verlaufen waren, eingespritzt, um die Bakterizidiefestigkeit der in der Flüssigkeit befindlichen Tuberkelbazillen nachzuweisen. Andererseits wurde aber, um festzustellen, ob die Eigenschaft durch die Tierpassagen verloren geht oder nicht, die Gewebsaufschwemmung einem normalen Tier subkutan eingespritzt. Die Impfstelle wurde nach 14 Tagen steril ausgeschnitten und eine Gewebsaufschwemmung, in der sich 2—3 Tuberkelbazillen in einem Gesichtsfelde befanden, aus der Innenwand gewonnen. 0,4 ccm derselben wurde wieder einem neuen Meerschweinchen eingespritzt. In der Weise machten die Bazillen 6 Tierpassagen durch. Nach der 3. Tierpassage haben wir aber Milz statt der Impfstelle als Impfmaterial benutzt, weil die Tuberkelbazillen nach Zunahme der Tierpassagen schneller in die Milz eindringen. Mit den Gewebsaufschwemmungen, die aus Geweben von den Tieren Nr. 1, 2, 3, 4 und 6 gewonnen waren, wurden andererseits auch tuberkulöse Tiere, bei denen 4 Wochen nach der Infizierung verlaufen waren, subkutan reinfiziert, um festzustellen, ob die Tuberkelbazillen in den Flüssigkeiten ihre Bakterizidiefestigkeit verlieren oder nicht.

In der folgenden Tabelle sind nur die notwendigsten Versuche kurz zusammengestellt.

		Lokaler Befund nach		
		1 Woche	2 Wochen	3 Wochen
tuberk. Tiere	Nr. 19 mit der ersten Gewebsaufschwemmung inf.	ein kleiner Knoten	ein erbsengroßer Knoten	aufgebrochen
	Nr. 20 desgl.	desgl.	desgl.	desgl.
ges. Tiere	Nr. 23 desgl.	keine Veränderung	desgl.	desgl.
	Nr. 24 desgl.	desgl.	desgl.	desgl.
tuberk. Tiere	Nr. 27 mit dem Bazillus nach einer Tierpassage	ein kleiner Knoten	ein zeigefingerspitzengroßer Knoten	aufgebrochen
	Nr. 28 desgl.	desgl.	desgl.	desgl.
ges. Tiere	Nr. 30 desgl.	keine Veränderung	ein erbsengroßer Knoten	desgl.
	Nr. 31 desgl.	desgl.	desgl.	desgl.

		Lokaler Befund nach		
		1 Woche	2 Wochen	3 Wochen
tuberk. Tiere	Nr. 40 mit dem Baz. n. 3 Tierpassagen	ein kleiner Knoten	ein daumenspitzengroßer Knoten	aufgebrochen
	Nr. 41 desgl.	desgl.	ein erbsengroßer Knoten	desgl.
ges. Tiere	Nr. 44 desgl.	desgl.	desgl.	desgl.
	Nr. 45 desgl.	desgl.	desgl.	desgl.
tuberk. Tier	Nr. 55 mit dem Bazillus nach 6 Tierpassagen	ein zeigefingerspitzengroßer Knoten	das Tier tot	
ges. Tier	Nr. 56 desgl.	ein kleiner Knoten	ein zeigefingerspitzengroßer Knoten	

Daraus geht hervor, daß die Tuberkelbazillen durch die Tierpassagen ihre Bakterizidiefestigkeit nicht verlieren, sondern daß sogar ihre Virulenz steigt. Die letzte Tatsache wird dadurch bewiesen, daß die Bazillen, wie schon erwähnt, je mehr Tierpassagen sie durchmachen, desto schneller in die Milz eindringen.

Wir haben ferner einen Versuch ausgeführt, um zu prüfen, ob Bazillen, die so oft Tiere passiert haben, durch Kultivierung auf künstlichen Nährböden auch ihre Bakterizidiefestigkeit ebenso schnell verlieren, wie die Bazillen, die nur einmal ein Tier passiert haben. Das Ergebnis war, daß die Tuberkelbazillen, die 7mal Tiere passierten, erst durch 2malige Kultivierung auf künstlichen Nährböden ihre Bakterizidiefestigkeit verlieren, während Bazillen, die nur 1mal ein Tier passiert haben, sie bei 1maliger Kultivierung ganz verlieren.

V. Bakterizidiefestigkeit des Tuberkelbazillus im Sputum.

Um festzustellen, ob der Tuberkelbazillus im phthisischen Sputum, wie zu erwarten, Bakterizidiefestigkeit besitzt, haben wir folgende Untersuchung ausgeführt. 20 ccm des Sputums wurden mit 20 ccm einer 20proz. Antiforminlösung gemischt. Die Mischung wurde 10 Min. lang in Zimmertemperatur gehalten, unter häufigem Schütteln gelöst und alsdann stark abzentrifugiert. Der Niederchlag wurde unter Zusatz von physiologischer Kochsalzlösung gewaschen und endlich durch Zusatz von dieser Kochsalzlösung eine Aufschwemmung, die 1—4 Tuberkelbazillen in jedem Gesichtsfelde enthielt, hergestellt. 0,4 ccm von der Aufschwemmung wurde zwei tuberkulösen Meerschweinchen, bei denen 4 Wochen nach der Infizierung verlaufen waren, eingespritzt.

		Lokaler Befund nach		
		1 Woche	2 Wochen	3 Wochen
tuberk. Tiere	Nr. 91 mit Tuberkelbazillen aus Sputum infiziert	ein kleiner Knoten	ein zeigefingerspitzengroßer Knoten	aufgebrochen
	Nr. 92 desgl.	ein sojabohnengroßer Knoten	ein sojabohnengroßer Knoten	ein zeigefingerspitzengroßer Knoten
ges. Tier	Nr. 93 desgl.	ein kleiner Knoten	ein kleiner Knoten	ein daumenspitzengroßer Knoten

Daraus geht hervor, daß Tuberkelbazillen im Sputum Bakterizidiefestigkeit besitzen.

Wir haben auch festgestellt, daß Kulturbazillen, die aus dem Sputum auf künstlichem Nährboden nur einmal fortgezüchtet wurden, auch ihre Bakterizidiefestigkeit verlieren. Die Züchtung wurde mittels der Antiforminbehandlung ausgeführt. Nach 11 Tagen trat ein ziemlich deutliches Wachstum ein. Zum Versuch wurde die erste Kultur und eine Subkultur benutzt.

Zusammenfassung.

1. Die Subinfizierungsfähigkeit der Tuberkelbazillen aus dem Gewebe ist nicht auf eine Beimischung von Gewebe und Gewebssaft, sondern auf ihre Bakterizidiefestigkeit zurückzuführen.

2. Tuberkelbazillen, die sich 2—3 Wochen im Tierkörper aufgehalten haben, können schon tuberkulöse Tiere, bei denen 4 Wochen nach der Infizierung verlaufen sind, subinfizieren.

3. Tuberkelbazillen, die sich 4 Wochen im Tierkörper aufgehalten haben, verlieren durch nur einmalige künstliche Züchtung, solche, die mehrere Tiere fortdauernd passiert haben, erst nach einigen Züchtungen auf künstlichem Nährboden ihre Bakterizidiefestigkeit.

4. Die Bakterizidiefestigkeit der Tuberkelbazillen verschwindet nicht durch Tierpassagen.

5. Der Tuberkelbazillus im Sputum besitzt auch Bakterizidiefestigkeit, aber er verliert sie ebenfalls schnell durch Ueberimpfung auf künstliche Nährböden.

6. Je mehr die Tierpassagen zunehmen, desto schneller dringen die Tuberkelbazillen in die Milz ein.

Bemerkung: Wir haben schon in der 1. Mitteilung gesagt, daß es bei der Reinfizierung viel auf die Bazillenmenge ankommt. Die Bazillenmenge muß entsprechend der Virulenz des Bazillus richtig gewählt werden.

Literatur.

1) Toyoda u. Yang, Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 89. 1923. — 2) Toyoda u. Tzuru, ebenda. — 3) Dies., ebenda. 1924.

Nachdruck verboten.

Zur Auffassung des anaphylaktischen Shocks als eines physikalisch-chemischen Phänomens. Begründung der Metaballodispersttheorie.

[Aus dem Mikrobiologischen Institut des Volksbildungskommissariats f. d. Moskauer med. Institute und aus dem Laboratorium des Reichsanilintrustes für Untersuchung chemotherapeutischer Präparate (Direktor: Prof. Dr. J. L. Kritschewsky).]

Von Prof. Dr. **J. L. Kritschewsky.**

Die gegenwärtige Arbeit hat als Ziel, meine und meiner Mitarbeiter Untersuchungen zu summieren, in denen ich zur Begründung der

Metaballodispersttheorie des anaphylaktischen Shocks gekommen bin[1]). Damit die hier dargestellte Lehre nicht unbegründet erscheine, darf sie keiner der Tatsachen widersprechen, die von zahlreichen Forschern bei Untersuchung dieses Immunitätsphänomens festgestellt worden sind.

Eine Theorie ist dann wertvoll, wenn sie mit keinen Tatsachen in Widerspruch steht, und wenn alles vorhandene Tatsachenmaterial durch die aufgestellte Theorie erklärt werden kann.

Eine Theorie ist lebensfähig, wenn sie einfach und von keinen Nebentheorien überhaupt ist; wenn neue Fakten durch sie nicht erklärt werden können, dann hat sie ausgelebt; wenn aber neue Ergänzungen und Nebentheorien zu ihrer Stützung erforderlich sind, dann ist die Theorie ihrem Ende nahe.

Die Metaballodispersttheorie entspricht den erwähnten Bedingungen. sie ist höchst einfach, nur auf Tatsachen, keineswegs auf Hypothesen begründet; kein Phänomen des anaphylaktischen Shocks bleibt durch sie ungelöst.

Die Metaballodispersttheorie betrachtet den anaphylaktischen Shock keineswegs als ein ausschließliches, von allen übrigen pathologischen Prozessen isoliert stehendes Phänomen; sie reiht ihn in die große Gruppe anderer Erkrankungen mit gleicher Pathogenese ein, von denen der anaphylaktische Shock nur durch sein besonders eigenartiges Entstehen differiert.

Die Metaballodispersttheorie des „Ash“[2]) ist im Vergleich mit anderen Theorien unter ganz besonderen Umständen entstanden, denn sie konnte erst nach Untersuchung der Pathogenese anderer krankhafter Erscheinungen, nämlich verschiedener Vergiftungen, dargestellt werden.

Die Metaballodispersttheorie kann in wenigen Worten zusammengefaßt werden. Sie betrachtet als Ursache des anaphylaktischen Symptomenkomplexes die im lebenden Organismus entstehenden Veränderungen des Dispersionsgrades der Kolloide teils im Blute, hauptsächlich aber im Zellprotoplasma, welche zuweilen schon in wenigen Minuten schwere Störungen lebenswichtiger Organe und den Tod nach sich ziehen.

Die Metaballodispersionstheorie basiert auf der Feststellung der Veränderungen des Dispersionsgrades der Blutkolloide (Bestimmung des

---

1) Kritschewsky, J. L., Zur Theorie des anaphylaktischen Shocks. (Russky Wratsch. 1916. Nr. 9, und Journ. of infect. Dis. Vol. 22. 1918.)

Kritschewsky, J. L., Zur Frage der Pathogenese der krankhaften Erscheinungen und Todesfälle nach Anwendung von Salvarsan. (Wratschebnoïe Delo. 1921. Nr. 21—26; Arch. f. Dermatol. u. Syphilis. Bd. 144. 1923.)

Kritschewsky, J. L., Erscheinungen und Todesfälle nach Anwendung von Salvarsan in Verbindung mit der Neutralisierung seiner toxischen Eigenschaften. (Wratschebnoïe Obosrenie. 1922; Arch. f. Dermatol. u. Syphilis. Bd. 144. 1923.)

Kritschewsky, J. L., und v. Friede, K. A., Die pathologische Anatomie der Salvarsanvergiftung in Verbindung mit der Pathogenese. (Arch. f. Dermat. u. Syphilis. Bd. 144.)

Kritschewsky, J. L., und Birger, Zur Lehre von den zellulären und humoralen Theorien der Anaphylaxie und ihr ähnlicher Zustände. (Wratschnebnoïe Obosrenie. 1922.)

Kritschewsky, J. L., und v. Friede, Zur Pathogenese des anaphylaktischen Shocks, ihm verwandter und ihm ähnlicher Prozesse. (Zeitschr. f. Pathol., Mikrobiol. u. Infektionskrankh. [russisch]. 1924.)

Kritschewsky, J. L., Zur Frage der Giftigkeit wässeriger Extrakte aus den Tierorganen und ihre Neutralisierung durch das Serum. (Biochem. Zeitschr. Bd. 126. 1921.)

2) „Ash“ = Abkürzung für „anaphylaktischer Shock“.

Komplementtiters vor und nach der Probe) und der Abnahme oder Steigerung des Dispersionsgrades des Zellprotoplasmas, die durch histologische Untersuchung zu ermitteln sind.

Die Komplementtitration, welche die Abnahme des Komplementgehaltes festzustellen erlaubt (Sleeswijk) und welche von Friedberger und seiner Schule als Argument zugunsten seiner Theorie der parenteralen Verdauung benutzt wird, dient nur als Indikator für die entstandenen Veränderungen des Dispersionsgrades der Kolloide, da bei solchen Phänomenen, wie die Abnahme des Dispersionsgrades, das Komplement von den aus der Dispersionsphase ausgeschiedenen Kolloiden adsorbiert werden muß und infolgedessen an dem Hämolyseprozeß, den wir als Indikator gebrauchen, nicht beteiligt werden kann. Die Veränderungen, d. h. Abnahme oder Steigerung des Dispersionsgrades der Kolloide des Zellprotoplasmas, können in allen Organen ohne jeglichen Indikator durch histologische Analyse festgestellt werden. Alle eingetretenen Funktionsstörungen sind durch Veränderungen der Struktur entsprechender Organe zu erklären.

Ich habe bereits bewiesen, daß viele Toxikosen eine gleiche Pathogenese haben. Die anaphylaktische Toxikose unterscheidet sich von allen anderen Vergiftungen dadurch, daß bei derselben der Stoff, der eine Veränderung des Dispersionsgrades verursacht, ein Produkt der Immunisierung des Organismus ist, wobei es gleichgültig ist, ob der Organismus die Immunkörper selbst produziert (aktive Anaphylaxie) oder fremde Immunkörper zugeführt erhält (passive Anaphylaxie).

Eine Antigenantikörperreaktion in vitro führt unbedingt zu Störungen des Dispersionsgrades der Kolloide im Dispersionsmedium. Die Tatsache ist als Axiom anerkannt und bedarf keiner neuen Argumente. Es ist auch von allen Autoren anerkannt, daß die Anaphylaxie ein Immunitätsphänomen vorstellt; Uneinigkeit besteht nur in der Frage, ob dieses Phänomen durch besondere Antikörper oder durch irgendeinen der Antikörper, von deren Vorhandensein wir uns in vitro überzeugen können, verursacht wird, und, in letzterem Falle, welcher der „gewöhnlichen" Antikörper beim Reagieren mit seinem Antigen in vivo einen „Ash" provoziert. Ich stehe auf dem Standpunkt der unitären Theorie (Bordet, Doerr), sehe also die Ursache aller Immunitätsphänomene in einem einzigen Antikörper; die Frage hat jedoch für die gegenwärtige Arbeit keine große Bedeutung. Ich halte, wie Doerr, für wichtig festzustellen, daß alle Forscher in einem Punkte einig sind, nämlich daß die Ursache des Ash in der Anwesenheit von Antikörpern im Versuchsorganismus und in ihrem Reagieren mit dem Antigen liegt. So brauche ich denn die Beteiligung von diesem oder jenem Antikörper am Ash nicht zu beweisen, sondern muß nur meine Ansicht bezüglich des Mechanismus, der bei gleichzeitiger Anwesenheit von Antigen und Antikörper im Tierorganismus Ash verursacht, verteidigen.

Ich habe schon früher geäußert und bewiesen, daß das Entstehen von Ash durch destruktive Prozesse, die sich bei dem Begegnen von Antigen und Antikörper auf dem Zellterritorium abspielen, verursacht sei. Ich kann die Bedeutung nicht ablehnen, welche die bei Anaphylaxie zuweilen (höchst selten bei aktiver, öfter bei passiver) in der Blutbahn entstehenden physikalisch-chemischen Prozesse für das Zustandekommen des anaphylaktischen Symptomenkomplexes haben; jedoch glaube ich, ebenso wie Weil, daß in der Mehrzahl der Fälle im

Gegenteil die Blutkolloide, indem sie in physiologisch-chemische Wechselwirkung mit dem Antigen treten, die Rolle eines Puffers spielen und, indem sie einen gewissen Teil des Dispersionsstörers binden, die Zellen lebenswichtiger Zentren vor der Wirkung des physikalisch-chemisch aktiven Stoffes schützen. Letzteres habe ich, wie auch Weil, experimentell bewiesen.

Nur von solchem Standpunkt aus können manche paradoxe Tatsachen begriffen werden, z. B. vermag präzipitierendes Ziegenserum Meerschweinchen passiv nicht zu sensibilisieren, obwohl der Ziegenorganismus leicht große Mengen von Präzipitinen produziert. Ein solches Phänomen wird dadurch verursacht, daß das Immunserum eine so große Menge Antikörper enthält, von denen nur ein Teil von den Organzellen des Meerschweinchens fixiert werden kann, weshalb eine große Menge freier Antikörper in der Blutbahn zirkuliert; diese Antikörper sind es, welche 24 Std. später bei der Antigenzufuhr mit diesem in der Blutbahn in Verbindung treten, wodurch die Körperzellen vor der Dispersionsstörung geschützt werden und kein Ash zustandekommen kann. Die bekannten Schwierigkeiten, auf die man beim Versuch, Serumanaphylaxie bei Kaninchen, d. h. bei den besten Produzenten von Antikörpern gegen Serumeiweiß, zu erzeugen, stößt, können in derselben Weise erklärt werden.

Wird von einem derartigen Gesichtspunkt aus die Zelle als hauptsächliches anatomisches Substrat des sich im anaphylaktischen Symptomenkomplex erweisenden pathologischen Prozesses betrachtet, dann ist es nicht gestattet, den in vivo mit dem Antigen reagierenden Antikörper mit den in vitro reagierenden Antikörpern ihrem Namen nach zu identifizieren. Die Wirkung des Antikörpers in vitro ist nicht immer mit dem in vivo entstehenden Prozeß identisch; es existiert z. B. ein voller Parallelismus zwischen dem Gehalt an Hämolysinen und Hämagglutininen in einem Immunserum und der Fähigkeit des Serums, aktive oder passive, Anaphylaxie gegen Erythrozyten bei Kaninchen zu verursachen, jedoch ist von mehreren Forschern erwiesen worden, daß Anaphylaxie nicht immer von Hämolyse begleitet wird. Nur das Wesen der physikalisch-chemischen Wirkung der Antikörper, d. h. die Veränderung der Kolloiddispersion im Dispersionsmedium bei ihrem Begegnen mit dem Antigen, ist immer in vivo und in vitro gleich; die äußere Form, in der die Störung des Dispersionsgrades sich zeigt, kann zufällig im Organismus und im Reagenzglas dieselbe sein, kann aber auch gänzlich differieren. Es ist von v. Knaffl-Lenz und Pick erwiesen worden, daß Plasteine eine Präzipitinbildung provozieren, jedoch ist ein Kaninchenserum, das solche Präzipitine enthält, unfähig, Meerschweinchen zu sensibilisieren. Die gleichen Verhältnisse ergeben sich auch für Koktosera. Ich bin mit der Erklärung, welche Doerr dem Phänomen gibt, einverstanden und muß in Beziehung zu meiner Theorie sagen, daß die für das Entstehen einer Störung des Dispersionsgrades bei der Antigenantikörperreaktion erforderlichen Bedingungen je nach der Verschiedenheit des Dispersionsmediums in vivo oder in vitro variieren. Der von Lake, Osborne und Wells konstatierte Mangel an Parallelismus zwischen der präzipitierenden und komplementbindenden Fähigkeit der vegetativen Proteine und ihrer Fähigkeit, anaphylaktische Antikörper zu produzieren, kann in gleicher Weise erklärt werden. Solche Erklä-

rung wird durch die Versuche von Doerr und Moldovan vorzüglich illustriert; die Autoren haben Sera gewonnen, deren Präzipitingehalt dem von anaphylaktischen Antikörpern bei der Präzipitationsmethode nach Uhlenhuth, d. h. beim Ueberschichten von fallenden Antigenmengen mit 0,1 ccm Immunserum, nicht entsprach. Sobald jedoch die Versuchsmethode in vitro modifiziert wurde und statt 0,1 ccm ein oder mehrere Kubikzentimeter Immunserum zugesetzt wurden, wie es bei passiver Sensibilisierung eines Tieres üblich ist, trat sofort Präzipitation auf und quantitative Koordination zwischen dem Präzipitin- und Antikörpergehalt.

In gleicher Weise kann ein und derselbe physikalisch-chemische aktive Stoff, je nach dem Substrat, mit dem er reagiert, verschiedene Phänomene in vivo erzeugen: Präzipitation, d. h. eine koagulative Degeneration, mit dem Eiweißstoff des Leber- und Nierenzellenprotoplasmas und Hämolyse der roten Blutkörperchen (Kritschewsky u. v. Friede, Sleeswijk, Kumagai); dies bezieht sich auch auf den Ash und andere pathologische Prozesse, welche durch Agentien mit physikalisch-chemischer Aktivität verursacht werden. Physikalisch-chemisch aktive Stoffe können gleichfalls auch in vitro, je nach dem Substrat, mit dem sie reagieren, Präzipitation der Eiweißstoffe, Komplementbindung, Agglutination der Zellen oder Hämolyse verursachen; solche Eigenschaften besitzen z. B. der Kotyledonensaft (Kritschewsky), Salvarsan (Kritschewsky) und andere Stoffe. Auf Grund dieser Erwägungen nehme ich an, daß die physikalisch-chemisch aktiven Stoffe, die der Organismus bei der Immunisierung produziert, in der Tat nur einen einzigen Stoff darstellen, wie z. B. das Salvarsan und Kotyledonsaft in unseren Versuchen. Dieses kann je nach dem Substrat und dem Dispersionsmedium oder je nach dem die Bildung entsprechender Antikörper provozierenden Antigen eine mehrfache Wirkung haben und verursacht Präzipitation, Komplementbindung, Agglutination, Hämolyse oder Shock[1]).

Deshalb wäre es nutzlos zu fragen, welcher der in vitro reagierenden Antikörper mit dem anaphylaktischen identisch ist!

Das vor uns stehende Problem muß in dem Sinne gelöst werden, daß die Immunisierung eines Tierorganismus die Bildung eines komplizierten physikalisch-chemisch aktiven Kolloidkomplexes provoziert, dessen Aktivität sich je nach dem Medium, in welchem Komplex und Antigen miteinander reagieren, in verschiedener Form offenbart.

Auf Grund solcher Erwägungen erhält die von vielen Autoren festgestellte Identität der Präzipitine, der komplementbindenden Antikörper oder Hämolysine mit dem anaphylaktischen Antikörper eine ganz neue Erklärung und muß in diesem Sinne korrigiert werden.

Die Präzipitation darf nicht mit der Anaphylaxie identifiziert werden, wie Friedberger es einst getan, weil die physikalisch-chemische Destruktion des Zellprotoplasmas nicht in allen Organen von einer Abnahme des Dispersionsgrades begleitet wird (Kritschewsky u. v. Friede). Bei der Hämolyse, wie auch bei allen bei Ash entstehenden Störungen der Zellen des Zentralnervensystems findet eine Dispersionssteigerung statt.

1) Sleeswijk hat erwiesen, daß bei Serumanaphylaxie eine Hämolyse der roten Blutkörperchen stattfindet. Die Tatsache wird auch von Tscharnotzki und Kumagai konstatiert.

Aus der Anerkennung eines einzigen Antikörpers als Ursache aller Immunitätsreaktionen folgern sich mehrere Ergebnisse: die Identität der Präzipitin und Hämolysin produzierenden Antigene mit dem anaphylaktischen Antigen; die gleiche Dauer der Latenzperiode bei der Antikörperproduktion und der Inkubationsperiode bei Anaphylaxie; die Verbindung des Präzipitinogens und der sensibilisierenden Stoffe bei Serumanaphylaxie mit den Eiweißglobulinen und der Hämolysine und sensibilisierenden Stoffe bei Erythrozytenanaphylaxie mit dem Stroma; schließlich die approximative Identität des quantitativen Gehaltes an Präzipitinen und Hämolysinen mit dem Gehalt an anaphylaktischen Antikörpern (Friedberger, Doerr u. Russ, Hintze, Armit, Friedemann, Kritschewsky) und die hiermit in Verbindung stehende Abnahme des Gehaltes an Präzipitinen oder Hämolysinen nach Ablauf von Ash (Scott, Joachimoglu, Bessau, Preusse u. Opitz).

Zur Begründung der Metaballodispersttheorie der Pathogenese von Toxikosen habe ich stets folgende Beweise angeführt: 1) das untersuchte Gift muß die Fähigkeit besitzen, in vitro den Dispersionsgrad der Kolloide zu verändern; 2) es muß in vivo dieselbe Fähigkeit besitzen, im Blut wie 3) in Organzellen; 4) ein Gift, welches in vitro seiner physikalisch-chemischen Aktivität beraubt und alsdann in einen Tierorganismus eingeführt wird, ist unschädlich und kann weder krankhafte Erscheinungen noch Tod verursachen.

Derartige Argumente waren bei der Begründung der Metaballodispersttheorie besonders notwendig, da eine neue Theorie, die mit älteren, durch mehrfache Untersuchungen gut begründeten Theorien wetteifern soll, durch erschöpfende Beweise bestätigt werden muß.

In der Tat, wie ich zuvor erwähnte, zeigt der bei Immunisierung des Organismus entstehende Kolloidkomplex, dessen Begegnen mit Antigen Ash provozierte, wobei ihr eigener Dispersionsgrad und der der Blut- und Protoplasmakolloide, mit welchem er verbunden ist, verändert werden, in vitro auch eine physikalisch-chemische Aktivität; solche Aktivität kann sichtbar werden als Präzipitation, Agglutination der Komplementtitrierung. Jede Störung des normalen Dispersionsgrades oder Lysis, in anderen Fällen nur mit Hilfe eines Indikators, nämlich der Komplementtitrierung. Jede Störung des normalen Dispersionsgrades der Blutkolloide in vivo führt zu einer Abnahme des Komplementgehaltes und kann durch Komplementtitrieren vor und nach dem Ash festgestellt werden. Die Tatsache ist von vielen Forschern, die sich an die Theorie Friedbergers halten, erwiesen worden. Derselbe Prozeß, d. h. eine Störung des Dispersionsgrades der Zellkolloide in vivo, ist von mir und Dr. v. Friede genau untersucht und erklärt worden. Wir haben demonstriert, daß solche Prozesse eine Abnahme des gewöhnlichen Dispersionsgrades der Kolloide (in der Mehrzahl der Organe), wie auch eine Steigerung desselben (Erythrozyten, Ganglienzellen im Zentralnervensystem) verursachen können.

Die parenchymatöse Degeneration, bei der das homogene Protoplasma körnig wird, ist nichts anderes wie eine sichtbare Vergrößerung der Molekularaggregate, der Dispersphase im Dispersionsmedium, durch Aggregation der Moleküle (hauptsächlich der Eiweißmoleküle) — ein Prozeß, welcher mit der in Lösungen von unorganisierten Kolloiden entstehenden Präzipitation, d. h. dem Verwandeln eines homologen kol-

loidalen Mediums in ein sichtbar zweiphasiges, identisch ist; der Unterschied zwischen beiden Prozessen besteht darin, daß im ersten Falle die Abnahme des Dispersionsgrades Zellkolloide betrifft, im zweiten Falle außerhalb der Zelle stattfindet. Ein gleicher Prozeß findet auch in Muskeln statt; da die Querstreifung einen Ausdruck gewisser räumlichen Anordnung der Eiweißmoleküle oder ihrer Aggregate darstellt, gibt der Schwund derselben einen unzweifelhaften Beweis der in der räumlichen Anordnung der Moleküle des Muskelprotoplasmas eingetretenen Veränderungen. Manchmal ist solche Abnahme des Kolloiddispersionsgrades in der Muskelsubstanz sehr scharf ausgeprägt: die kontraktile Substanz erscheint bei mikroskopischer Untersuchung zerrissen, in Schollen zerfallen; es kommt auch vor, daß gleichzeitig mit dem Schwund der Querstreifung der Herzmuskel bei Eosinfärbung bunt erscheint, d. h. daß manche Muskelfasern in gewöhnlicher Weise Rosafärbung annehmen, während andere nebenliegende Fasern einen ganz anderen Farbenton zeigen. Dieses Phänomen hat für uns großen Wert, weil es mit der bekannten Tatsache, daß kolloidale Lösungen je nach der Veränderung der Größe der Dispersphase ihre Färbung variieren, eine volle Analogie darstellt.

In den Nervenzellen findet ein anderer Prozeß statt, nämlich eine Steigerung des Dispersionsgrades der Zellkolloide, welche eher der Hämolyse analog ist, da Chromatolyse (Tigrolyse) und Achromatose nichts anderes sind wie eine Zerstäubung oder Desaggregation der Dispersionsphase, welche sich darin erweist, daß große formierte Schollen der tigroiden Substanz in kleine Molekülaggregate zerfallen und bei weiterer Störung der Zellen gänzlich verschwinden.

Das vierte Argument, welches meine Theorie bestätigt, nämlich die Tatsache, daß ein Stoff, nachdem er seine physikalisch-chemische Aktivität in vitro verloren hat, für Tierorganismen in vivo unschädlich wird, ist bereits in den Forschungen (darunter auch unsere nicht publizierte Arbeit) mehreren Autoren dargestellt worden.

Die Untersuchungen haben gezeigt, wie aus den weiter angeführten Protokollen zu ersehen ist, daß ein Antierythrozytenkaninchenserum fähig ist, wenn es gleichzeitig mit einem Antigen eingeführt wird, Ash zu provozieren, jedoch diese Fähigkeit verliert, wenn es vorher in vitro eine Hämagglutination verursacht hat oder während einer halben Stunde im Brutschrank bei 37° mit Erythrozyten gemischt gestanden hat. Hierbei tritt eine Adsorption der Antikörper ein; das Serum hat alsdann seine physikalisch-chemische Aktivität verloren.

Auszug aus den Protokolen.

Kontrollen:

Kaninchen, 1470 g. Iv. 1 ccm 50proz. Aufschwemmung von Hammelerythrozyten + 4 ccm zweifach mit Kochsalzlösung verdünnten Antihammelerythrozyten-Kaninchenserums[1]). Ash. Tod in 8 Min.

Kaninchen, 1500 g. Iv. 1 ccm 50proz. Aufschwemmung von Hammelerythrozyten + 4 ccm mit Kochsalzlösung zweifach verdünnten Antihammelerythrozytenserums. Serumtiter 1:1500. Ash. Tod in 4,5 Min.

Kaninchen, 1200 g. Iv. 1 ccm 50proz. Aufschwemmung von Hammelerythrozyten + 3 ccm mit Kochsalzlösung zweifach verdünnten Antihammelerythrozytenserums. (Titer 1:1500.) Ash. Tod nach 12 Min.

1) Serumtiter 1:1500. 2 ccm Serum + 2 ccm Kochsalzlösung.

Versuche:

Kaninchen, 1420 g. Iv. 1 ccm 50proz. Aufschwemmung von Hammelerythrozyten + 4 ccm der Lösung A [1]). Keine Erscheinungen.

Kaninchen, 1490 g. Iv. 1 ccm 50proz. Suspension von Hammelerythrozyten + 4 ccm der Lösung A [1]). Keine Erscheinungen.

Kaninchen, 1210 g. Iv. 1 ccm 50proz. Suspension von Hammelerythrozyten + 4 ccm der Lösung A [1]). Keine Erscheinungen.

Kaninchen, 1340 g. Iv. 1 ccm 50proz. Suspension von Hammelerythrozyten + 4 ccm der Lösung A [1]). Keine Erscheinungen.

Ich habe weiter oben dargetan, welche tiefen Destruktionsprozesse in verschiedenen Organen bei Ash eintreten. Es entsteht die Frage, welche Organe bei ihrer Destruktion den Tod des Organismus verursachen. Ich glaube, daß bei verschiedenen Individuen derselben Art der Tod durch Destruktion verschiedener Organe verursacht werden kann. In manchen Fällen (höchst selten bei aktiver, häufiger bei passiver Anaphylaxie) wird der Tod durch bei Lebzeiten im Herzen und im Gefäßlumen gebildete Thromben provoziert; bei anderen Individuen sind destruktive Prozesse im Herzmuskel (Blutergüsse in die Muskelsubstanz, Destruktion der Muskelfasern), Lungenödem oder Spasmus der Bronchialmuskulatur dazu genügend. Zumeist werden die Todesfälle wie auch der klinische Symptomenkomplex durch Blutergießungen im Zentralnervensystem und durch Zerstörung der Ganglienzellen verursacht. Deshalb bin ich mit Löwit nicht einverstanden, welcher das Entstehen von Ash durch die Summe der destruktiven Prozesse, die in allen Organen eintreten, erklären will. Aus meinen Forschungen und denen von Dr. v. Friede ergibt sich, daß eine Destruktion des Zentralnervensystems, besonders der Medulla oblongata, in allen Fällen von Ash stattfindet, auch in jenen, wo der Tod mit Bestimmtheit als Resultat der Destruktion anderer Organe zu betrachten ist. Die Bedeutung der Destruktion der Medulla oblongata ist auch daraus zu ersehen, daß es Schürer und Strasselmann gelungen ist, bei Abwesenheit von basalen Ganglien oder von Großhirn Ash zu provozieren. Daher kann ich, obgleich ich mich mehrmals überzeugt habe, daß in den meisten Organen bei Ash eine Destruktion eintritt, doch Löwit nicht zustimmen, welcher die Hauptrolle einer Destruktion des Zentralnervensystem bei Ash nicht anerkennen will.

Infolgedessen können auch die Ansichten der Forscher, welche die Ursache des Ash in einer Destruktion peripherer Organe, nicht des Zentralnervensystems sehen, nicht in Betracht gezogen werden, besonders weil die Autoren in der Frage, welches Organ denn eigentlich als Ursache des Ash betrachtet werden soll, zu keiner Uebereinstimmung gekommen sind.

Der Spasmus der Bronchialmuskulatur, welchen ich als eine Erscheinung zentraler Herkunft, manche Autoren (Doerr) als Ursache des Ash bei Meerschweinchen betrachten, hat keine universelle Bedeutung, da er oft ausbleibt (Kumagai, Löwit, Kritschewsky u. v. Friede). Das Phänomen von Auer-Lewis, welches mit dem Spasmus der Bronchialmuskulatur in Verbindung steht, ist für Ash

1) Die Lösung A wurde folgendermaßen bereitet. Es wurden gleiche Mengen einer 50proz. Suspension von Hammelerythrozyten und eines Antihammelerythrozytenserums in einem Zentrifugierglas gemischt. Nach 2stünd. Aufenthalt im Brutschrank bei 37° wurde das Gemisch zentrifugiert und die Flüssigkeit abpipettiert. Das hämolytische Serum ist das gleiche, das den Kontrolltieren eingeführt wurde.

nicht pathognomonisch und kann keineswegs den Symptomenkomplex desselben erklären. In dieser Hinsicht stimmt meine Ansicht mit der von Doerr[1]) und Löwit überein. Letzterer hat manchmal bei Meerschweinchen Bakterienanaphylaxie beobachtet, die von keinem Lungenemphysem begleitet war; Kritschewsky u. v. Friede haben ein Ausbleiben desselben bei akuter Serumanaphylaxie, andere Autoren bei protrahierter Anaphylaxie konstatiert. Andererseits werden manche pathologischen Prozesse stets vom Phänomen von Auer-Lewis bei Meerschweinchen begleitet, z. B. die Vergiftungen mit Essigsäure, $CuSO_4$ (Löwit), Saponin, Buttersäure, oleinsaurem Natrium, Aether, Chloroform, Morphium (Friedberger u. Vallardi, Friedberger u. Jerusalem), mit dem Saft von Cotyledon Scheindeckeri, mit Salvarsan (Kritschewsky). Bei verschiedenen anderen Tieren wird Ash gewöhnlich von keinem Lungenemphysem begleitet.

Cesaris Demel u. Auer glauben, daß bei Kaninchen Ash durch pathologische Veränderungen des Herzapparates verursacht werden könne. Damit bin ich nicht einverstanden; auch kann ich die Ursache des Ash bei Hunden nicht ausschließlich in den in der Leber entstandenen Veränderungen sehen.

Zuvor habe ich erwähnt, daß Ash nur eine der mehrzähligen Ausdrucksformen des Metaballodispersshocks[2]) vorstelle und deshalb von keinen spezifischen, nur diesem Leiden eigenen Organstörungen begleitet werde; man findet im Gegenteil bei allen Prozessen, deren Pathogenese in Veränderungen des Dispersionsgrades der Organismuskolloide liegt, dasselbe anatomische Bild wie bei Ash.

Ich muß in einer kategorischen Form gegen die Ansicht von Löwit Stellung nehmen, welcher die zellulären Veränderungen nicht als primäre Erscheinung betrachtet, sondern als eine sekundäre, deren Entstehen durch keinen lokalen Prozeß oder, wie Löwit sich ausdrückt, durch keine Giftbildung in loco, sondern durch eine Resorption des von abseits zugeführten Giftes verursacht werde (z. B. die Ursache der wachsartigen Degeneration sieht der Autor in der direkten Wirkung der bei Anaphylaxie und dieselbe begleitenden Konvulsionen sich bildenden Milchsäure auf die Muskelsubstanz). Weiter werden wir die Frage nochmals berühren, da wir sehen werden, daß kein Gift im pharmokologischen und chemischen Sinne des Wortes als Ursache der Anaphylaxie gelten kann.

Aus der Arbeit von Kritschewsky u. Birger, die gleichzeitig mit normalen Fröschen und mit solchen, deren Blutbahn statt Blut Ringer-Lockesche Lösung enthielt, experimentiert haben, und aus einer histologischen Untersuchung der Organe von Tieren, welche Ash überstanden hatten (Kritschewsky u. v. Friede), muß ich den Schluß ziehen, daß jede Zelle des Ash überstehenden Organismus einem mikroskopischen, mit Kolloiden gefüllten Reagenzglas ähnlich wird, in welchem beim Begegnen der zwischen den Kolloiden zirkulierenden Antikörper mit ihrem Antigen derselbe Prozeß, d. h. dieselbe Veränderung der räumlichen Anordnung der Kolloidaggregate und die dadurch verursachte Zelldestruktion, entsteht, welcher im makroskopischen Reagenzglas bei Präzipitation, Agglutination oder Hämolyse,

1) In diesem Falle widerspricht sich Doerr. Wenn man den Spasmus der Bronchialmuskulatur als pathognomonisch für die Ash-Erscheinung hält, ist die Rolle des Lungenödems bei Todesfällen nicht zu verwerfen.

2) Metaballodispersshock wird weiter mit „Mbdsh" bezeichnet werden.

d. h. bei dem Reagieren von Präzipitinen, Agglutininen oder Hämolysinen mit den entsprechenden Antigenen, stattfindet. Solche Zelldestruktion wird nicht allein durch degenerative Prozesse, wie Entartungen oder Nekrobiosis, ausgedrückt, sondern verursacht schließlich den Tod der Zellen, d. h. die Nekrose (Kritschewsky u. v. Friede).

Da wir mehrmals den Tod von fixen Körperzellen konstatiert haben, können wir den vermuteten Tod der Leukozyten (Richet, Biedl u. Kraus, Scott, Weiß u. Tsura) und der Thrombozyten (Achard, et Agnaud, Sacerdotti) annehmen, nicht aber ihre vermutete Anhäufung in den Kapillargefäßen (Sacerdotti); solche Anhäufungen konnten durch keine anatomische Untersuchung festgestellt werden, auch das Entstehen von Hämolyse bei Ash kann als sicher gelten (Sleeswijk, Tscharnotzky u. Kumagai).

Außer diesen Erscheinungen muß auch die Beteiligung der Phagozyten bei Ash berücksichtigt werden. Löwit hat in den Lungenalveolen der an akuter oder protrahierter Anaphylaxie gestorbenen Meerschweinchen Leukozytenanhäufungen gesehen (Pneumonia anaphylactica); v. Szily, Köbner, Zade haben dasselbe Phänomen in der Sklera konstatiert (Keratitis anaphylactica). Benöcke und Steinschneider haben im intrazellulären Bindegewebe des Herzmuskels der in wenigen Minuten an Anaphylaxie gestorbenen Meerschweinchen zwischen den wachsartig degenerierten Schollen Anhäufungen von Leukozyten entdeckt; Kritschewsky und v. Friede haben eine intensive und rasche Freßtätigkeit der Neuronophagen im Zentralnervensystem beobachtet.

Die Untersuchungen mehrerer Autoren über den Stoffwechsel bei Ash ergänzen und bestätigen unsere Ergebnisse. Ash wird stets von einem gesteigerten Eiweißabbau begleitet, welcher die eingeführte Antigenmenge übertrifft und folglich als Resultat eines Abbaus der Körperzellen betrachtet werden muß. Solcher Zerfall ist erkennbar an den Zellen, die während des Versuches absterben oder nur degeneriert waren und durch das Stadium der Nekrobiosis unbedingt zur Nekrose gekommen wären.

Ich habe meine Ansicht von der Lokalisierung der Prozesse, deren äußeren Ausdruck Ash vorstellt, weiter oben formuliert. Ich stehe auf einem eklektischen Standpunkt und glaube, daß der Symptomenkomplex von Ash hauptsächlich von den auf dem Zellterritorium entstehenden Prozessen abhängt, daß aber in manchen Fällen der Tod und wahrscheinlich auch mehrere Symptome durch die im Blute entstehenden Prozesse verursacht werden. (Dies geschieht höchst selten bei aktiver Anaphylaxie der Meerschweinchen, öfter bei passiver, auch bei zellulärer Anaphylaxie des Kaninchens.) Trotz solchen Eklektismus erkenne ich die dominierende Rolle der zellulären Prozesse an.

Wie bekannt, sind die anfangs aufgestellten zellulären Theorien durch die humoralen, welchen Friedberger eine feste Begründung gegeben hat, verdrängt worden. Doch kommt die zelluläre Theorie wieder ans Licht, indem sie als Ausgangspunkt die bei passiver Anaphylaxie stattfindenden, für die humorale Theorie unerklärbaren Verhältnisse nimmt (die Arbeiten von Coca, Manwaring, Kritschewsky u. Birger). Es kann nämlich eine passive Anaphylaxie bei Meerschweinchen nur nach einer gewissen Inkubationsperiode entstehen, welche gewöhnlich mindestens 4 Stunden dauert; der Zeitpunkt, in dem die Inkubationsperiode ein Ende nimmt und es möglich wird, bei

einer „Probe" Ash zu provozieren, trifft mit dem Moment zusammen, in dem alle Antikörper aus der Blutbahn verschwunden und von den Kolloiden des Zellprotoplasmas fixiert sind; die Anwesenheit von Antikörpern in der Blutbahn vermindert oder annuliert die Möglichkeit des Entstehens von krankhaften Prozessen, da die Antikörper, wie Weil, Kritschewsky u. Birger erwiesen haben, eine Schutzfunktion erfüllen, indem sie das in die Blutbahn injizierte Antigen fixieren und dasselbe zu den Zellen nicht gelangen lassen; nur der Schwund einer großen Quantität von Antikörpern aus der Blutbahn gestattet dem Antigen freien Zutritt zu den Zellen. Thiele und Embleton betrachten solche Schutzfunktion der in der Blutbahn zirkulierenden Antikörper als eine relative, weil sie durch Steigerung der injizierten Antigenmenge annuliert werden kann. Dieser Umstand widerspricht jedoch keineswegs den festgestellten Tatsachen, da es verständlich ist, daß der im Blute von keinen Antikörpern gebundene Ueberfluß von Antigen von den sensibilisierten Zellen adsorbiert wird und infolgedessen Ash provoziert.

Diese mit der humoralen Theorie in direktem Widerspruch stehenden Tatsachen wären allein genügend, um der zellulären Theorie eine feste Basis zu geben. Eine noch festere Begründung erhält die Theorie durch die Arbeiten von Coca, Manwaring, teilweise durch die von Kritschewsky u. Birger[1]); es gelang den Autoren, nachdem sie den größten Teil des Blutes bei sensibilisierten Meerschweinchen (Coca), Hunden (Manwaring) und bei Fröschen vollständig entfernt und nach dauerndem Durchspülen der Blutbahn mit Ringer-Lockescher Lösung ersetzt hatten (Kritschewsky u. Birger), Ash (Coca) oder einen gleichen Symptomenkomplex wie bei anderen Metaballodispersprozessen (Kritschewsky u. Birger) zu provozieren.

Nach den soeben angeführten Untersuchungen, welche unter mit der bei Ash üblichen Versuchsanordnung gleichen Bedingungen ausgeführt worden sind, können die an und für sich genug überzeugenden Arbeiten an isolierten Organen sensibilisierter Tiere nur wenig zu den dargestellten Argumenten hinzufügen. Jedoch sind diese Versuche auch nicht einwandfrei; von allen gemachten Einwendungen haben diejenigen eine wichtige Bedeutung, welche auf die Differenz, die zwischen Ash im ganzen Organismus und den in isolierten Organen stattfindenden Erscheinungen existiert, weisen. Jeder Einwand, der gegen die Identität des Reagierens der vom Organismus isolierten sensibilisierten Organe auf Einführung von Antigen oder von irgendeinem beliebigen Serum gemacht werden könnte, würde bedeutungslos erscheinen, nachdem Dale die Notwendigkeit einer quantitativen Bestimmung der Mengen des Antigens oder der Normalsera gezeigt und dabei erwiesen hat, daß im ersten Falle die Kontraktion der Organe durch weit kleinere Serummengen verursacht wird als im zweiten. Die qualitative Identität des Reagierens isolierter Organe auf Einführung von Antigen oder von Seren, die kein Antigen im

1) Die von uns erhaltenen Resultate haben nur eine relative Bedeutung, da bei Kaltblütern keine Anaphylaxie erzeugt werden kann. Wir halten es jedoch für möglich, die bei anderen Metaballodispersionsprozessen erhaltenen Resultate auf Anaphylaxie zu übertragen. Andererseits ist unsere Untersuchung vor den Vorwürfen gesichert, welche Coca und Manwaring gemacht werden können; so ergänzen unsere Arbeiten einander gegenseitig.

gegebenen Falle vorstellen, ist nur ein Abbild der Identität, welche zwischen Ash und dem bei Einführung von artfremdem Eiweiß in einem Tierorganismus entstehenden Symptomenkomplex existiert.

Die zelluläre Theorie hat einen überzeugenden Beweis in der Arbeit von Rumpf erhalten, der erwiesen hat, daß die isolierte Leber eines sensibilisierten Tieres nach dem Zusatz von Antigen aufhört Harnstoff zu produzieren (Lebershock); wird das Antigen tropfenweise eingeführt, dann läßt sich feststellen, daß eine Antigenmenge, welche genügt, um in einer neuen sensibilisierten Leber den Lebershock hervorzurufen, die synthetische Funktion der ersten Leber nicht paralysieren kann (Antianaphylaxie). Die Arbeit ist höchst wertvoll, da sie auf die physikalisch-chemische Natur des Ash weist; denn die von Rumpf erzielte Antianaphylaxie der Leber ist nichts anderes, wie eine Modifikation des Phänomens von Danysz; beim Vergleich der Resultate der von Kritschewsky u. v. Friede einerseits und von Rumpf andererseits ausgeführten morphologischen Analysen der eingetretenen Zellveränderungen ergibt sich, wie zu vermuten war, daß die Destruktion des Protoplasmas zu einer Hemmung der Funktion des geschädigten Organs führt.

Nur vom Standpunkt der zellulären Theorie kann die wundervolle Tatsache erklärt werden, daß die im Zustand von Antianaphylaxie sich befindenden Tiere eine Ueberempfindlichkeit auf andere Tiere übertragen können; wenn ein Tier sich im Zustand der Antianaphylaxie befindet, dann ist bereits in seinem Organismus eine Verbindung des Antigens mit den Antikörpern auf dem Zellterritorium eingetreten. Daher finden neue, von außen zugeführte Antigenmengen keine Objekte in den Zellen, mit welchen sie in Verbindung treten können. Die bei solchen Verhältnissen in der Blutbahn entstehende Verbindung des Antigens mit freien Antikörpern ist unfähig, irgendwelche Gesundheitsstörungen zu verursachen, und erfüllt im Gegenteil eine Zellschutzfunktion, worauf Weil zuerst hingewiesen hat; gleichzeitig können die von den Zellen losgerissenen, im Blute zirkulierenden Antikörper in den Organismus eines neuen Meerschweinchens übertragen werden und dasselbe sensibilisieren.

Zu derselben Kategorie von Tatsachen gehören auch die Versuche von Pick und Hashimoto, in denen es sich erweist, daß Leberzellen von am Shock gestorbenen Meerschweinchen im Gegensatz zu solchen von normalen Tieren nach dem Tode nur minimal oder gar nicht autolysiert werden. Hier findet natürlich kein „Fermentshock" statt, wie die Autoren es glauben, vielmehr ist die Schwächung oder Hemmung der Autolyse ein Resultat der Bildung großer Aggregate von Eiweißmolekülen im Protoplasma als Folge der Verminderung ihres Dispersionsgrades; je größer solche Aggregate sind, desto schwerer können sie autolysiert werden.

Wir haben also eine kurze Zusammenfassung der Argumente gegeben, die zugunsten der zellulären Theorie sprechen. Was die Einwendungen anbetrifft, welche gegen dieselbe gemacht werden, ist die von Friedberger scheinbar die ernstere. Der Autor weist auf das Ausbleiben von Komplementbindung durch Antigen und Zellen des sensibilisierten Tieres in vitro hin, vernachlässigt dabei aber gänzlich den Umstand, daß das Verhältnis des Zelldetritus zum Komplement in vitro mit dem Verhältnis der Organzellen in vivo nicht identisch ist. Solche Komplementbindung durch Antigen und gewisse Zellen von

sensibilisierten Tierorganismen findet manchmal statt, und dies geschieht in einer höchst überzeugenden Weise — ich meine die Hämolyse der Erythrozyten bei Anaphylaxie (Sleeswijk, Tschernotzky u. Kumagai); durch dasselbe Phänomen kann auch das Fixieren des Anaphylaktogens durch die Körperzellen demonstriert werden.

Wir müssen uns noch bei einem für die zelluläre Theorie ungünstigen Argumente von Friedberger aufhalten. Bei passiv sensibilisierten Meerschweinchen kann Ash nur nach einer gewissen Inkubationsperiode provoziert werden, während alle von außen zugeführten Antikörper von den Zellen des Versuchstiers fixiert werden. Friedberger stellt die Notwendigkeit einer Inkubationsperiode für das Zustandekommen des Shocks in Abhängigkeit von der nach Einführung von Immunserum entstehenden Abnahme des Komplementgehalts, welcher gegen Ende der Inkubationsperiode wieder steigt (Friedberger u. Hartoch, Hartoch); in Abwesenheit von Komplement ist nach Friedberger Shock unmöglich. Wenn man mit solcher Präsumption einverstanden ist, muß man doch notieren, daß nach Serumeinführung bei Meerschweinchen kein Schwund, sondern nur eine Abnahme des Komplements eintritt und eine gewisse Menge desselben anwesend bleibt, die genügt, um an den Reaktionen, bei denen das Komplement unentbehrlich wäre, Anteil zu nehmen.

Schon lange suche ich gleich Auer und Löwit zu zeigen, daß bei Ash keine spezifischen, ihm allein eigenen Symptome, physiologischen Prozesse oder anatomischen Veränderungen stattfinden; im Gegensatz zu den Autoren jedoch, mit denen wir auf dem gleichen Standpunkt stehen, bleibe ich meiner Theorie bis zum Ende getreu und suche nicht, wie Doerr, irgendwelche, wenn auch unbedeutende Züge bei Ash zu entdecken, die nur diesem Phänomen allein eigen seien. Es ist dies auch ganz natürlich, da nach meiner Ansicht Ash nur eine der vielen Erkrankungen vorstellt, die durch ein und dieselbe Ursache provoziert werden, nämlich durch Veränderung des Dispersionsgrades der Organismenkolloide; es wäre auch inkonsequent, wenn ich individuelle Züge bei Ash suchen würde. Wenn ich auch keinen qualitativen Unterschied zwischen den klinischen, physiologischen und anatomischen Symptomen verschiedener Leiden, welche zu den Metaballodisperserkrankungen gehören, anerkennen kann, so muß ich doch darauf hinweisen, daß bei verschiedenen Erkrankungen, je nach ihrer Aetiologie, diese oder jene Züge quantitativ prävalieren können.

Schon längst, fast gleichzeitig mit der Entdeckung des Ash, ist man darauf aufmerksam geworden, daß die Symptome des Ash viel Gemeinschaftliches mit denen einer Reihe anderer pathologischer Prozesse, besonders der durch Einführung in einen Tierorganismus von Blut, Plasma oder Tierserum verursachten, haben; hieraus entstand die Vermutung, daß diese Leiden eine gemeinschaftliche Pathogenese haben. Später ist in Verbindung mit Friedbergers Lehre eine Reihe von anderen, einen Ash ähnlichen Symptomenkomplex verursachenden Stoffen (zumeist Eiweißderivate) untersucht worden. So wurde eine große Gruppe von Stoffen durch die Untersuchung der Pathogenese ihrer toxischen Wirkung mit der Anaphylaxie in Verbindung gebracht.

Außer den genannten Stoffen gibt es viele andere, die in keiner Verbindung zum Ash stehen, jedoch bei Einführung in den Organismus einen ihm gleichen Symptomenkomplex provozieren; es gibt auch

viele krankhafte Zustände, welche von anaphylaxieähnlichen klinischen Symptomen begleitet werden, deren Aetiologie indeß unbekannt bleibt.

Ich bin schon lange zu dem Schluß gekommen, daß viele Stoffe, die nach Einführung in einen Organismus einen dem Ash gleichen klinischen, physiologischen und anatomischen Symptomenkomplex verursachen, auch eine gleiche Pathogenese mit Ash haben — nämlich eine Veränderung des Dispersionsgrades der Kolloide der Organzellen, welche eine Destruktion des Protoplasmas und öfters den Tod nach sich zieht.

Alle Stoffe, welche den Mbdsh (Metaballodispersshock) provozieren können, verursachen Erkrankungen oder Todesfälle, wenn sie unmittelbar in die Blutbahn eingeführt werden; dabei entfalten die einen Stoffe ihre giftige Wirkung ausschließlich bei der erwähnten Einführungsweise und bleiben unschädlich bei anderen Einverleibungsmethoden (z. B. der Kotyledonensaft bei intraperitonealer Einführung), andere bleiben giftig, wenn sie in großen Mengen intraperitoneal eingeführt werden, oder erzeugen ihre Wirkung nach einem längeren Zeitraum und werden von keinen stürmischen Erscheinungen begleitet; es gibt auch Stoffe, die bei subkutaner Injektion giftig wirken (z. B. Schlangengift, KCN)[1]).

Eine Einteilung der einen Mbdsh verursachenden Stoffe ist von mir schon früher gegeben worden. Sie kann auch jetzt fast ohne jegliche Korrektur beibehalten werden, obgleich bereits 7 Jahre verflossen sind, seitdem ich zum ersten Male die Grundzüge meiner Theorie entwickelt habe.

Krankhafte Prozesse (allgemeine und lokale) und Todesfälle, welche durch Stoffe verursacht werden, die den normalen Dispersionsgrad der Kolloide des Organismus stören.

A. In einem immunisierten Organismus.
I. Aktive Anaphylaxie.
1) im Verhältnis zu Eiweißstoffen (Serumanaphylaxie),
2) im Verhältnis zu den Zellen (Zellularanaphylaxie).
B. In einem nicht immunisierten Organismus.
I. Durch Immunsera.
1) Passive Anaphylaxie; Einführung eines Gemisches von Antigen und Antikörper.
2) Shock nach Einführung von Antigenkörpern gegen Eiweißstoffe oder Zellen des Versuchstierorganismus.
3) Shock bei Meerschweinchen nach Injektion von Antihammelerythrozytenserum, welches durch Immunisierung von Kaninchen mit Hammelerythrozyten oder mit Organen (Forssman) oder Erythrozyten (Kritschewsky) von Tieren, deren Zellen ein heterogenes Hammelantigen enthalten, gewonnen ist.
II. Durch Stoffe tierischer Herkunft.
1) Shock nach Einführung mancher Normalseren.
2) Shock nach Einführung frisch defibrinierten Blutes oder Blutplasmas.
3) Shock nach Injektion wässeriger Tierorganextrakte.
4) Shock nach Injektion von sog. Anaphylatoxin, d. h. von nicht inaktiviertem, mit Bakterien oder Protozoen, Eiweißstoffen, Agar usw. bearbeitetem Serum, oder von solchem, welches mit Kaolin, Kieselgur usw. digeriert worden war.
5) Tierische Gifte im direkten Sinne des Wortes (z. B. Schlangengift).
III. Durch Stoffe tierischer oder pflanzlicher Herkunft, deren chemische Struktur unbekannt ist, oder durch chemische Präparate. Zur ersten Gruppe ge-

1) Hierzu gehören auch die durch Respiration in den Organismus gelangenden Gifte, wie sich aus meinen und v. Friedes nicht publizierten Untersuchungen über Stickgase ergibt.

hören Rizin, Kotyledonsaft, das Toxin von B. perfringens[1]) usw. Die zweite Gruppe umfaßt verschiedene Stoffe, z. B. Kieselsäure, Ferrum hydrooxydat. dialysat. Salvarsan, KCN usw.

Nachdem die Grundlagen unserer Theorie dargestellt worden sind, ist es nötig, eine spezielle Uebersicht über die Stoffe, welche historisch mit der Lehre von der Anaphylaxie zusammenhängen, und der Prozesse, welche dem nach vorheriger Sensibilisierung des Organismus entstehenden Shock genetisch nahe stehen, zu geben.

Viele Forscher sind auf die Identität oder Aehnlichkeit des Symptomenkomplexes des Ash und mehrerer anderer Prozesse aufmerksam geworden, weshalb solche Prozesse den Namen von „anaphylaxieähnlichen", „anaphylaktoiden" usw. erhalten haben.

Wenn man sich der richtigen Ansicht anschließt, daß nur jene Form des Mbdsh Ash genannt werden kann, welche durch eine Störung des Dispersionsgrades der Organismuskolloide bei einer Antigenantikörperreaktion verursacht wird, so umfaßt der Begriff von Ash nur folgende Prozesse: 1) aktive Anaphylaxie, 2) passive Anaphylaxie und 3) Einführung in einen Organismus von Antikörpern gegen sein arteigenes Eiweiß oder gegen das in letzterem anwesende heterogene Antigen.

Alle anderen Zustände, welche auf Grund ihres übereinstimmenden klinischen Symptomenkomplexes in Verbindung zur Anaphylaxie gebracht werden, dürfen nicht „anaphylaxieähnlich" oder „anaphylaktoid" genannt werden, da bei ihnen ein wichtiger Umstand fehlt, nämlich die Antigenantikörperreaktion.

Tatsächlich stehen „anaphylaxieähnliche" Zustände und Ash einander nahe, und zwar ist diese Verwandtschaft eine weit radikalere und allgemeinere als eine bloße Identität des Symptomenkomplexes und wird durch die Einheit der Pathogenese der erwähnten Zustände und des Ash bedingt. Bei solcher Auffassung der dargestellten Verhältnisse würde eine zentrale Stellung des Ash mit einer Pathogenese in Widerspruch stehen, ganz so wie man sich eine zentrale Lage der Erde unter den Planeten des Sonnensystems nicht vorstellen könnte, da sie ihrem Ursprunge widersprechen würde.

So müssen denn die Bezeichnungen „anaphylaxieähnlich", „anaphylaktoid" usw. verworfen werden; alle krankhaften Zustände, deren Symptomenkomplex dem bei Ash ähnlich oder gleich ist, und deren Pathogenese in einer Veränderung des Dispersionsgrades der Organismuskolloide besteht, müssen als Metaballodispersshock bezeichnet werden.

Ich habe schon erwähnt, daß die Existenz einer genetischen Verwandtschaft mit aktivem oder passivem Ash nur bei jenen Prozessen zu vermuten sei, welche durch die Einverleibung von Antieiweißserum gegen das Gattungseiweiß des Versuchstieres oder gegen ein in seinen Organen anwesendes heterogenes Antigen (Forssman u. Hintze, Orudgieff u. Sachs) verursacht werden; man kann aber keine solche Verwandtschaft bei Vergiftungen annehmen, die nach Injektion irgendeines beliebigen Immunserums entstehen. Solche Toxikosen, wenn sie überhaupt existieren[2]), erscheinen als eine selbständige Form des Mbdsh

1) Nach einer nicht publizierten Untersuchung von Dr. v. Friede.

2) Diese Frage, welche einen Streit zwischen v. Dungern u. Hirschfeld, Doerr, Biedl u. Kraus, Grätz einerseits, und Friedberger u.

und müssen, gleich der Intoxikation mit Fremdserum, „Anaphylotoxin" usw., in eine besondere Gruppe eingereiht werden. Ich glaube, daß, wenn eine Steigerung der Toxizität der Immunseren für Meerschweinchen bewiesen sein sollte, der Grund derselben darin zu sehen wäre, daß während der Immunisierung eine Neubildung von physikalisch-chemisch höchst aktiven Kolloidkomplexen stattfindet, welche teilweise durch eine Steigerung des Globulingehaltes ausgedrückt wird. Friedberger wollte auch diesen Prozeß wie ein Immunitätsphänomen erklären, wobei er Anwesenheit von Antigenresten vermutete, welche im Organismus des immunisierten Tieres nicht reagieren und nur im Meerschweinchenorganismus mit den entsprechenden Antikörpern reagieren können; jedoch entbehrt diese Theorie des Beweises.

Ebenfalls unbegründet sind die Ansichten von Friedberger, Doerr u. Moldovan, welche von diametral verschiedenen Gesichtspunkten aus den bei Einführung von artfremdem Eiweiß entstandenen Prozeß für ein Immunitätsphänomen halten und in genetische Verbindung zum Ash stellen. Friedberger bedient sich des Petitio principi: um einen Prozeß mit unbekannter Pathogenese zu erklären, wendet er sich seiner unbewiesenen und viel kritisierten Lehre von der Pathogenese des Ash zu und ersetzt in solcher Weise eine Unbekannte durch eine andere; die toxische Wirkung der Normalseren hält er für eine Folge der Organismusvergiftung durch giftige Produkte, welche bei fermentativer Spaltung der mit den Seren eingeführten Antigene durch normale Antikörper des Versuchstieres und sein Komplement gebildet werden. Doerr sowie Doerr u. Moldovan stehen auf demselben Standpunkt wie Friedberger in allem, was die Pathogenese des Ash anbetrifft, differieren aber darin, daß sie das Antigen in den Erythrozyten des Versuchstieres, die Antikörper (Hämolysine) im injizierten Serum zu entdecken suchen. Beide Ansichten können der Kritik nicht widerstehen. Camus u. Gley haben erwiesen, daß in manchen Fällen (z. B. nach Injektion von Ochsenserum bei einem Kaninchen) die Koordination zwischen dem hämolytischen und dem toxischen Effekt nur eine eventuelle ist; das Aalserum, welches höchst toxisch für Katzen und Murmeltiere ist, kann, in denselben Mengen genommen, die Erythrozyten der genannten Tiere nicht hämolysieren; ein gleiches Phänomen ist im Verhältnis des Pferdeserums zum Katzenorganismus von Schultze beobachtet worden; es ist, meiner Ansicht nach, ein gleiches Verhältnis desselben zum Menschenserum zu vermuten; es mißlingt auch gänzlich oder gelingt nur unter besonderen Bedingungen, die toxische Wirkung primär toxischer Seren durch Erythrozyten zu neutralisieren (H. Pfeiffer, Mita u. Ito). Doerr hat sich schließlich von seiner Theorie losgesagt und sieht die Ursache des toxischen Effekts nicht mehr in normalen Hämolysinen, sondern in normalen Zytotoxinen (Ambozeptoren). Soweit in solcher modifizierten Auffassung irgendwelche normale Immunkörper figurieren und Doerr und Pick die Normalserumtoxikosen als eine Anaphylaxieerscheinung, sei es auch eine „umgekehrte Anaphylaxie", betrachten, können wir solche Theorie nicht annehmen.

Castelli, Friedberger u. Mita, Blaizot, Händel andererseits hervorgerufen hat (wobei die Gelehrten der ersten Gruppe, im Gegensatz zu denen der zweiten, keine Toxizität der antibakteriellen, Antipferde- und Antiochsensera anerkennen wollen), halte ich für keineswegs gelöst.

Der uns interessierende pathologische Prozeß kann durch den Umstand erklärt werden, daß im Blute, wie auch in den Exkreten von Tierorganismen (Schlangengift und andere tierische Gifte) Stoffe vorhanden sind, die eine physikalisch-chemische Aktivität im Verhältnis zu den Kolloiden anderer Spezies besitzen und beim Einverleiben in einen artfremden Organismus die Blut- und Zellkolloide desselben zerstören, indem sie den normalen Dispersionsgrad der Zellkolloide verändern und dadurch Erkrankungen verursachen. Schon Loeb, Stickler u. Tuttle haben auf eine gleichzeitig mit der Hämolyse eintretende Hämagglutination hingewiesen; Kritschewsky u. v. Friede haben bei Einführung von normalem Tierserum höchst ernste Störungen beobachtet, welche in wenigen Minuten in den Zellen aller Organe und Gefäße des Versuchstierorganismus entstanden und von einer Steigerung oder Abnahme des Dispersionsgrades begleitet waren.

Ich habe oben erwähnt, daß die Serumkrankheit der Menschen eine gleiche Pathogenese hat; das Leiden stellt einen besonderen Fall der Vergiftung mit heterogenen Seren dar.

Die Anwesenheit von physikalisch-chemisch aktiven Kolloidkomplexen verursacht die seit langer Zeit bekannte Toxizität des frisch defibrinierten Blutes, die nach Einführung von Blut derselben wie auch fremden Tierart beobachtet werden kann. Doerr hat erwiesen, daß die Fähigkeit des frisch defibrinierten Blutes oder des Blutplasmas beim Gerinnen verschwindet; sie kann jedoch viele Stunden erhalten werden, wenn man ihre Gerinnung verhindert. Vom Gesichtspunkt meiner Theorie ist es leicht zu verstehen, weshalb die Toxizität von den Gerinnungsprozessen abhängt. Es verwandeln sich nämlich während der Gerinnung, die eine Abnahme des Dispersionsgrades vorstellt, die physikalisch-chemisch aktiven Kolloide entweder unmittelbar, eher aber durch Adsorption in ein Gel, infolgedessen macht ihr Ausbleiben im Dispersionsmedium dasselbe atoxisch. Nach Doerr können die im Gerinnsel oder in der aus diesem ausgepreßten Flüssigkeit erhaltenen Stoffe toxisch wirken; dies stimmt auch mit meiner Auffassung des Prozesses überein. Friedberger stellt auch die pathologischen Prozesse, welche eintreten, wenn Meerschweinchen Meerschweinchenserum, welches einige Zeit in vitro mit Bakterien, Eiweißgerinnseln, Agar, Pektin, Inulin, Stärke, Kaolin, Kieselgur usw. in Kontakt gewesen ist, intravenös injiziert wird, in nahe Verbindung[1]) mit Ash, da er dieselben als Folgen einer Vergiftung mit Produkten parenteraler Eiweißspaltung, d. h. mit demselben „Anaphylatoxin", welches auch Ash verursacht, ansieht; Friedberger glaubt, daß bei solchen Prozessen, wie auch bei aktiver Anaphylaxie, das Antigen von außen in den Organismus eingeführt wird, Antikörper und Komplement sich im Plasma der Versuchstiere befinden. Ich werde diese Theorie noch einer kritischen Analyse unterwerfen, hier sei nur darauf hingewiesen, daß die Vergiftung mit „Anaphylatoxin" in keiner Verbindung mit Ash steht und eintritt, weil das Meerschweinchenserum, nachdem die Stoffe, welche im nativen Serum seine physikalisch-chemische Aktivität neutralisierten, durch Bakterien, koaguliertes Eiweiß usw. adsorbiert worden sind, physikalisch-chemisch aktiv wird und daher die Fähigkeit erhält, den Dispersionsgrad der Kolloide im Versuchsorganismus zu verändern.

1) Mit Ausnahme der Sera, welche mit Kaolin und Kieselgur bearbeitet worden sind.

Derselbe Autor und seine Anhänger, welche Ash als Folge einer Vergiftung des Organismus mit Produkten der bei der Antigenantikörperreaktion mit Beteiligung von Komplement entstehenden parenteralen Verdauung betrachten, suchten Ash zu provozieren, indem sie Produkte von abgebautem Eiweiß, wie Pepton, β-imidazolyläthylamin, β-imidazolpropionsäure (Histamin) u. a., in den Versuchsorganismus einführten. Die genannten Eiweißabbauprodukte provozieren eine Erkrankung, die von Ash[1]) nicht zu unterscheiden ist; doch dies geschieht nicht, weil, wie Friedberger und seine Anhänger glauben, eben diese Stoffe das Gift darstellen, welches bei parenteralem Eiweißabbau durch Zusammenwirkung von Antigen und Komplement entsteht, sondern weil solche Stoffe eine physikalisch-chemische Aktivität besitzen und durch Veränderung des normalen Dispersionsgrades der Zellprotoplasmakolloide lebenswichtige Zentren stören oder vernichten. Diese Tatsache ist von Kritschewsky u. v. Friede in ihrer Beziehung zum „Anaphylatoxin" und zu den erwähnten Stoffen dargestellt worden.

Die letzte Gruppe von Stoffen, die einen dem Ash analogen Symptomenkomplex verursachen, umfaßt solche Körper, die vom chemischen Gesichtspunkt aus ganz verschieden erscheinen und von keinem Forscher in Beziehung zum Ash gestellt werden. Dazu gehören: Blausäure, KCN[1]), Essigsäure, Kieselsäure, Buttersäure, buttersaures Natrium, Aetzkali, Koalin; Citrate, Phosphormolybdänsäure, Nukleinsäure, Kalzium phtoricum, Ammon. oxalicum, kolloidales Eisenhydroxyd, Tannin, Salze der Schwermetalle, Salvarsan[2]), Stickgase[2]), Saponin, Morphium, Kasein, Strophantin, Hirudin, Trypsin, wässerige Organextrakte, Kotyledonsaft[2]), Schlangengift[2]), das Toxin von B. perfringens, Endotoxin von V. cholerae[2]). Die Pathogenese ihrer toxischen Wirkung liegt in ihrer physikalisch-chemischen Aktivität, die wir zuvor ausführlich genug untersucht haben. Mehrere der genannten Stoffe erweisen, gleich den Normal- und Immunseren, in vivo wie auch in vitro ihre physikalisch-chemische Aktivität; die Tatsache ist von mir festgestellt worden, doch hat sie eine falsche Deutung bekommen. So halten Doerr und Moldovan, die auf einen vollen Parallelismus der Eigenschaften der Kieselsäure und des Antieiweißserum in vivo und in vitro hingewiesen haben, den Shock in beiden Fällen für eine Folge des thrombosierenden Gerinnungsprozesses. Ich habe vorher erwähnt, daß vom physikalisch-chemischen Gesichtspunkt aus das Gerinnen nur den Ausdruck einer Veränderung des Dispersionsgrades der Kolloide vorstellt. Wenn man auch mit einer gewissen Schwierigkeit ein Zeichen der Gleichheit zwischen dem Gerinnen und der Abnahme des Dispersionsgrades stellen will (der thromboplastische Effekt ist nur eine Ausdrucksform der Abnahme des Dispersionsgrades), so darf man nicht vergessen, daß bei diesen Phänomenen höchst ernste, zerstörende Prozesse in den Zellen eintreten,

1) Wir haben schon einmal notiert, daß alle Versuche, irgendeinen Unterschied zwischen dem klinischen, physiologischen und anatomischen Symptomenkomplex bei Ash und dem bei Vergiftungen nach Einführung von den Dispersionsgrad der Kolloide verändernden Stoffen, z. B. von „Anaphylotoxin" zu erhalten, gescheitert sind, da jedes Symptom bei allen Metaballodispersprozessen, abgesehen von ihrer Aetiologie, konstatiert werden konnte; es kann allerdings dieses oder jenes Symptom je nach der Pathogenese des Shocks mehr oder weniger oft vorkommen.

2) Nach meinen teils publizierten, teils noch nicht herausgegebenen Arbeiten.

die im Gegenteil von einer Steigerung des Dispersionsgrades begleitet werden (Ganglienzellen, Erythrozyten). Obwohl ich mit der Ansicht von Doerr und Moldovan bezüglich der Pathogenese des Shocks bei Einführung von Kieselsäure und kolloidalem Eisenhydroxyd nicht einverstanden bin, muß ich jedoch notieren, daß diese Autoren zuerst auf den zwischen der Identität des klinischen Symptomenkomplexes und der eiweißpräzipitierenden Wirkung der Immunkörper und der ohne jegliche Immunisierung entstandenen Stoffe existierenden Parallelismus hingewiesen haben. Jedoch sind sie auf dem folgerichtigen physikalisch-chemischen Standpunkt nicht geblieben und haben den physikalisch-chemischen Störungen eine, obwohl große, doch nebensächliche Rolle zugeschrieben, indem sie dieselben nur als eine unerläßliche Bedingung für das Freiwerden des im Blute anwesenden Giftes betrachten. Damit haben die Autoren auch einen humoralen Charakter der Prozesse anerkannt, die ich Metaballodispersprozesse nenne und in die Zellen lokalisiere. Allem Anschein nach hat Doerr in letzter Zeit seine Ansichten in dem Sinne geändert, daß er physikalisch-chemische Prozesse als Ursache des Ash annimmt, jedoch tut er es nur im Verhältnis zu einem akuten Shock bei Meerschweinchen; er verwirft dabei die humorale Theorie und sieht die Todesursache im Eintreten eines Bronchospasmus, obwohl letzterer, wie ich schon gesagt, nicht konstant ist (Kumagai, Kritschewsky und v. Friede). Um die Pathogenese von Ash bei Hunden, Kaninchen und die protrahierte Form des Ash bei Meerschweinchen zu erklären, läßt Doerr, allerdings ohne große Bestimmtheit, die Möglichkeit einer Vergiftung mit Eiweißabbauprodukten zu.

v. Behring nimmt auch als primum movens die Anwesenheit von Gerinnungsprozessen bei Ash an, da das Entstehen einer Thrombozytolyse nach der beim Shock stattfindenden Thrombozytenagglutination bewiesen ist.

Die zuvor genannten Stoffe sind bei weitem nicht alle fähig, gleich den Immunkörpern eine Abnahme des Dispersionsgrades der Kolloide in vitro zu verursachen, jedoch besitzen sie alle eine deratige Fähigkeit in vivo, was entweder durch Komplementtitrierung vor und nach Mbdsh oder durch anatomische Untersuchung der in verschiedenen parenchymatösen Organen eingetretenen Koagulationsprozesse bewiesen werden kann. Solchen Beweis habe ich mittels der einen oder anderen, meistenteils aber mittels beider Methoden geführt. Der Shock wurde durch Einführung von Kotyledonsaft, Salvarsan, Stickgasen, KCN, Rizin, Kobragift, Endotoxin von V. cholerae und Tetanustoxin[1]) in den Tierorganismen provoziert. Mehrere Forscher haben eine im lebendigen Organismus eintretende Störung der Kolloiddispersion bei aktiver und passiver Anaphylaxie konstatiert (durch Komplementtitrieren: Sleeswijk, Friedberger u. Hartoch, Hartoch; durch anatomische Untersuchung: Tscharnotzky, Benecke u. Steinschneider, Worzikowsky-Kundratitz, Kritschewsky u. v. Friede); beim Shock nach Normalserumeinführung wurden dieselben Prozesse von Tsuru, Doerr u. Moldovan, Löwit u. Bayer, Markoff, Busson u. Takanashi (Komplementtitrierung) und von Kritschewsky u. K. A. v. Friede (anatomische Untersuchung) konstatiert; bei Einführung von Immunseren von Friedberger u. Hartoch (Komplementtitrierung) und von Kritschewsky u. v. Friede

1) Die Untersuchungen sind nur zum Teil publiziert.

histologische Untersuchung); bei Anaphylatoxinvergiftung von Kritschewsky (nicht publizierte Arbeit), Kritschewsky u. v. Friede (anatomische Untersuchung); gleiche Resultate wurden bei intravenöser Injektion von wässerigen Organextrakten oder Histamin[1]) erhalten (anatomische Untersuchung von Worzikowsky-Kundratitz). Man darf glauben, daß eine Untersuchung der Vergiftungen durch andere physikalisch-chemisch aktive Soffe ein gleiches Resultat gegeben hätte.

In den vorstehenden Ausführungen habe ich versucht, die Gesamtheit der Tatsachen und die Erscheinungen der Anaphylaxie mit der Metaballodispersttheorie in Uebereinstimmung zu bringen.

Nunmehr möchte ich eine Gruppe von Tatsachen analysieren, die mit der am besten argumentierten und heutzutage dominierenden Theorie, welche den Ash als Resultat einer Organismusvergiftung durch giftige Eiweißabbauprodukte, die bei parenteraler Antigenverdauung gebildet werden, betrachtet, in Verbindung stehen. Diese von Friedberger und seiner Schule höchst methodisch und folgerichtig erörterte Theorie hat, während sie als Arbeitshypothese diente, der Wissenschaft große Dienste geleistet, indem sie das Ansammeln eines großen Tatsachenmaterials veranlaßt hat. Doch heutzutage, da diese Lehre eine Anwesenheit von Eiweißstoff für unentbehrlich beim Gewinnen von Anaphylatoxin hält und, um diesen Satz besser zu begründen, eine Reihe von unverwerflichen Tatsachen zu mißbilligen sucht, wird sie zu einem Hemmnis für den weiteren wissenschaftlichen Fortschritt. Wir müssen gestehen, daß von allen Theorien, welche die Pathogenese des Ash zu erklären suchten, Friedbergers Theorie unser gefährlichster Gegner ist, denn von allen chemischen Theorien widersteht sie allein jedem Versuche, ihren scheinbar allgemeinen Triumph zu vermindern. Friedberger formuliert seine Ansicht über die Pathogenese des Ash folgendermaßen: „Kommt nun bei intravenöser Reinjektion Eiweiß parenteral in den Organismus eines Tieres, in dem von einer früheren Injektion her Antieiweißkörper, die auf das betreffende Eiweiß spezifisch eingestellt sind, zirkulieren, so findet innerhalb der Blutbahn die Vereinigung von Antigen und Antikörper statt, und dabei erfolgt ein ganz plötzlicher Abbau des Eiweißes, der sich natürlich bei der ersten Injektion nur ganz allmählich vollziehen konnte. Die dabei intermediär sich bildenden Stoffe sind vielleicht, ja sogar wahrscheinlich, dieselben wie bei der enteralen Verdauung."

Manche solcher Abbauprodukte, die Friedberger „Anaphylatoxin" nennt, wirken höchst giftig auf Tierorganismen, da sie sich im Blute befinden und, im Gegensatz zu den im Darmschlauch befindlichen, unmittelbar auf den Organismus wirken können. Bei der Bildung von giftigen Produkten des parenteralen Abbaus ist nach Friedberger die Anwesenheit von Komplement unentbehrlich. „Der Antikörper bewirkt in jedem Fall nur eine physikalische Zustandsveränderung, die im Reagenzglas sichtbar wird, als Präzipitation bei amorphem Eiweiß, als Agglutination bei zelligen Elementen usw. Zur eigentlichen Abspaltung des Giftes muß noch ein Bestandteil aus dem Normalserum des Tieres hinzukommen, bei dem wir die Reinjektion vornehmen; es ist das das Komplement. Wir könnten etwa diese Verhältnisse ver-

1) Loewit weist auf ein Ausbleiben der Verminderung des Komplementgehaltes bei diesem Prozeß hin; wahrscheinlich ist das von ihm beschriebene Resultat ein individuelles, welches eventuell auch bei Anaphylaxie stattfinden kann.

gleichen mit denen bei der peptischen Verdauung der Milch, wo das Lab die Koagulation, das Pepsin den Abbau des Eiweißes bedingt."

Wenn man der Divergenz zwischen der gleichzeitig chemischen und humoralen Theorie von Friedberger und meiner Theorie auf den Grund geht, so findet man, daß bei gewisser Uebereinstimmung in zwei Punkten, nämlich in dem Anerkennen 1) der Identität der in vivo und in vitro reagierenden Antikörper, 2) ihrer unerläßlichen physikalisch-chemischen Wirkung auf das Antigen — die Ursache solcher Divergenz und, meiner Ansicht nach, auch der von Friedberger begangenen Fehler darin liegt, daß er jede Beteiligung der Zellen bei Ash kategorisch ablehnt. In der Tat wäre es für jeden, der die Beteiligung von physikalisch-chemischen Prozessen bei Ash anerkannt und auf dem Boden der zellulären Theorie steht, unmöglich, die verderbliche Wirkung solcher Prozesse auf den normalen Zustand des Organismus zu verwerfen; dies zugegeben, müßte man gleichfalls annehmen, daß sie imstande sein, Ash zu verursachen, und daß die Anwesenheit von Komplement bei Ash keineswegs unentbehrlich sei; damit wäre auch jede Annahme einer chemischen Natur des Ash verworfen.

Wir haben soeben gesehen, welch große Bedeutung Friedberger der Komplementbeteiligung bei der Pathogenese des Ash zuschreibt. Gleichzeitig nimmt Friedberger an, daß eine Verminderung des Komplementgehalts nach Ash eintreten muß; die Tatsache ist auch von Sleeswijk konstatiert und von Friedberger u. Hartoch systematisch untersucht worden. Ich habe mich schon vorher bei diesem Phänomen aufgehalten und betrachte es als ein unbestreitbares, obwohl unbeständiges und in seinen quantitativen Verhältnissen variierendes Symptom des Ash. Ich habe demonstriert, daß dieses Phänomen eine Folge der in der Blutbahn stattfindenden physikalisch-chemischen Prozesse, nämlich der Antigenantikörperreaktion ist; solche Prozesse führen zum Ausscheiden von großen Molekularaggregaten aus dem Dispersionsmedium, welches durch Verminderung des Komplementgehaltes, wahrscheinlich infolge einer Adsorption desselben durch Kolloide, deren Dispersionsgrad vermindert worden ist, entsteht. Aus der Tatsache, daß eine Verminderung des Komplementgehaltes auch bei anderen Prozessen eintritt, wenn das physikalisch-chemische Agens auch kein Eiweißstoff ist, ergibt sich, daß das Komplement an der fermentativen Spaltung nicht beteiligt werden kann. Ganz unbegründet schreibt Friedberger dem Komplement fermentative Eigenschaften zu und will einen „Verbrauch" desselben beweisen, obwohl dieses in direktem Widerspruch zu der Lehre von der „Unverbrauchbarkeit" der Fermente bei den Prozessen stehen würde. Mit anderen Worten, er verwendet eine unbegründete Voraussetzung (das Komplement ist ein Ferment) zur Widerlegung eines festgestellten und gut begründeten Grundsatzes (die experimentell festgestellte Verminderung des Komplementgehalts bei Ash, welche die Beteiligung des vermuteten Fermentes an dem vermuteten Verdauungsprozeß bestätigen sollte, bedeutet in der Tat nicht den Verlauf von Komplement, sondern das Mitreißen desselben aus der Dispersionsphase durch Kolloide, deren Dispersionsgrad durch Antigen wie durch jedes beliebige physikalisch-chemische Agens gestört worden ist. Wenn solch physikalisch-chemischer Faktor ein Antigen ist, so wird das Komplement von dem Komplex: Antigen + Antikörper adsorbiert; hieraus ist zu folgern, daß je mehr Antikörper sich im Blute befindet, eine desto größere Anzahl von

Kolloidkomplexen mit vermindertem Dispersionsgrad sich aus einem Sol in die Gelform verwandelt, und eine desto größere Menge Komplement dabei adsorbiert wird. Eben daraus wird, wie Weil erwiesen hat, wenn ein Meerschweinchen einmal mit einer kleinen Dosis Antigen sensibilisiert worden ist und in seinem Blute nur eine geringe Anzahl von Antikörpern erscheint, bei der Reinjektion, wie intensiv der Ash auch sein mag, der Komplementschwund nur ein geringer sein. Wenn dagegen einem gesunden Meerschweinchen in eine Vene Antigen und gleichzeitig in eine andere Vene fertige Antikörper injiziert werden, oder wenn ein Gemisch von Antigen und Antikörpern intravenös injiziert wird, wird, trotz des völligen Ausbleibens von Shock oder der Unbedeutendheit der Symptome des Shocks, eine große Menge Komplement in die Reaktion mitgerissen. Friedberger u. Hartoch haben festgestellt, daß beim Einführen von hypertonischer Kochsalzlösung in einen sensibilisierten Tierorganismus kein Ash entstehen kann, und glauben, diese Tatsache durch die Abwesenheit jeglicher Verbindung des Komplements mit dem Komplex: Antigen + Antikörper erklären zu können, weil, wie Hektoen erwiesen hat, in Gegenwart hypertonischer Lösungen das Komplement von solchen Komplexen nicht gebunden wird. Jedoch ist von Doerr und Ruß konstatiert worden, daß die Tatsache durch die Unmöglichkeit eines Entstehens einer Antigenantikörperverbindung unter solchen Bedingungen, d. h. durch die Unmöglichkeit für das Antigen, seine physikalisch-chemische Aktivität zu entfalten, erklärt werden könne. Dasselbe kann auch bei Einführung von Anaphylatoxin und Pepton beobachtet werden; auf einen Organismus, dem vorher hypertonische Kochsalzlösung injiziert worden ist, üben diese Stoffe keinen Effekt aus, d. h. die beiden Metaballodispersstoffe können in Gegenwart großer Mengen NaCl ihre physikalisch-chemische Aktivität nicht erweisen. Beim Vergleich der in beiden Fällen ergebnislosen Versuche, einen Shock zu provozieren, sei es durch Antigeneinführung, in einen sensibilisierten Organismus, sei es durch Einführung von Pepton oder „fertigem" Anaphylatoxin, muß jede Annahme einer Komplementbeteiligung an dem Ash-Phänomen abgelehnt werden, denn für die Wirkung fertiger Gifte ist kein Komplement nötig. Um auch diese Tatsachen mit seiner Theorie in Uebereinstimmung zu bringen, ist Friedberger gezwungen, letztere noch komplizierter zu machen; er behauptet, daß Anaphylatoxine, wie auch Peptone, nur infolge der Komplementwirkung im Organismus toxisch werden. Es gibt aber auch solche Tatsachen, gegen welche Friedberger nur unbewiesene Hypothesen einwenden kann. So hat v. Sarnovsky dargetan, daß bei Mäusen gleichfalls ein Ash provoziert werden könne, obgleich in ihrem Organismus kein Komplement, sondern nur das Mittelstück vorhanden ist; diese Tatsache widerspricht der Theorie von Friedberger, welcher früher selbst behauptet hat, daß Ash nur in Gegenwart der beiden Komplementteile entstehen könne. So sieht sich denn Friedberger gezwungen, die Vermutung zu äußern, daß, obgleich es nicht gelingt, im Mäuseserum die Anwesenheit von Komplement in vitro zu konstatieren, was in Widerspruch mit dem bei allen anderen Tieren erhaltenen Resultat steht, dasselbe aber in vivo existiert und als solches reagiert; diese Vermutung ist von Friedberger bisher nicht bestätigt worden.

Wir haben also zu demonstrieren versucht, daß eine Verminderung des Komplementgehalts während des Ash nur ein zufälliges Symptom

darstellt, welches auf das Entstehen oder das Ausbleiben der Anaphylaxie keinen Einfluß hat.

Sollte Ash als eine Intoxikation mit giftigen Eiweißabbauprodukten anzusprechen sein, die bei parenteraler Verdauung des Antigens durch das Komplement unter Beteiligung der Antikörper gebildet werden, so müßten die Verteidiger dieser Theorie auch folgende Tatsachen demonstrieren: 1) den Schwund des während der Verdauung zerfallenen Antigens, 2) den Verbrauch der Antikörper, die nach Friedberger eine Hilfsrolle bei diesem Prozeß spielen, 3) die Anwesenheit von Antigenzerfallsprodukten im Organismus und 4) eine dem mit dem Antigen eingeführten Eiweißüberschuß entsprechende Ausscheidung von Stickstoff. Man kann die ersten beiden Forderungen für bewiesen erachten, denn bei sensibilisierten Tieren verschwinden beim Shock Antigen, wie auch Antikörper (Römer u. Viereck) aus der Blutbahn weit schneller als bei normalen. Doerr jedoch, welcher Friedbergers Theorie untreu geworden ist, erwidert richtig, daß jede Immunitätsreaktion, bei der eine Neutralisierung oder Bindung des Antigens durch Antikörper und — muß ich hinzusetzen — ein Ausscheiden des entstandenen Komplexes aus der Dispersionsphase stattfindet, gleiche Folgen haben muß. Solches Ausscheiden, welches auch von Friedberger anerkannt wird, genügt, um eine Verminderung des quantitativen Gehalts an Antigen und Antikörpern zu verursachen; daher ist es unnötig, Verdauungsprozesse heranzuziehen, um das Phänomen zu erklären; andererseits kann die Verminderung des Gehalts an Antigen und Antikörpern nicht als Beweis einer stattgefundenen parenteralen Verdauung dienen. Außerdem sind nach Friedbergers Ansicht die Funktionen der Antikörper bei Ash mit denen des Labferments identisch, d. h. diese Stoffe haben eine fermentative Wirkung, wie Katalysatoren, und werden beim Prozeß nicht verbraucht; daher ist jegliches Streben, ihre Verminderung oder ihren Schwund zu konstatieren, sogar vom Gesichtspunkt der Theorie, welche parenterale Verdauung anerkennt, höchst unlogisch und unbedacht. Im Gegenteil ist bisher, trotz zahlreicher Versuche in dieser Richtung, keine Spur von Abbauprodukten, deren Anwesenheit die wichtigste Bestätigung der Theorie von Friedberger vorstellen würde, entdeckt worden[1]). Mehrere Autoren haben während ihrer Untersuchungen keine Eiweißabbauprodukte bei Ash entdeckt (Abderhalden, Pearce u. Williams, Auer u. van Slyke), andere Forscher haben entgegengesetzte Resultate erhalten (Pfeiffer u. Mita, Joachimoglu, Kamman); bei solchen Untersuchungen hat ein negatives Resultat mehr Wert als ein positives, da Abderhalden selbst, der in dieser Frage eine große Autorität vorstellt, bei normalen Kontrolltieren dialysierende und Biuretreaktion zeigende Stoffe konstatiert hat.

Die Steigerung der Stickstoffbildung bei Tieren, die einen Ash überstanden haben, kann als festgestellt gelten, obgleich nicht alle Autoren in diesem Punkt einig sind. Der Umstand jedoch, daß die Menge des ausgeführten N seinen Gehalt im Antigen übertrifft, spricht gegen Friedbergers Theorie und dient sogar als wichtiges Argument zugunsten der Metaballodisperstheorie. Wenn man die wichtigen destruktiven Prozesse berücksichtigt, die nach einem Ash in verschiedenen Organen zu konstatieren sind, kann man sich vorstellen, daß, obwohl

1) Derselben Meinung ist auch Doerr.

das Versuchstier sich erholt hat, der Eiweißstoff solcher Zellen, deren degenerierte Teile nicht mehr regenerationsfähig sind, wie auch der gänzlich nekrotisierten, einem Rückschluß ausgesetzt werden müssen. Also zeugen die Resultate der Stoffwechseluntersuchung keineswegs zugunsten der Theorie von Friedberger, sondern fügen ein neues Argument zu der anatomischen Basis meiner Theorie hinzu. Es ist bemerkenswert, daß Friedberger selbst, obwohl er bei seiner Ansicht bleibt, die oben angeführten Tatsachen in derselben Weise wie ich erklärt und die Menge des ausgeschiedenen Stickstoffes als aus zwei Teilen bestehend betrachtet: aus dem Antigenstickstoff und dem Stickstoff, welcher infolge „sekundärer Einschmelzung von Körpereiweiß" ausgeschieden ist.

Wir betrachten diese Untersuchungen, welche dazu dienen, bei unsensibilisierten Tieren durch Einführung von Eiweißabbauprodukten einen Ash hervorzurufen, als einen natürlichen Folgeschluß aus der Lehre Friedbergers. Schon im Jahre 1905 hat H. Pfeiffer gezeigt, daß Stoffe, die in vitro bei Fibrin- und Serumeiweißverdauung durch Pepsin + HCl oder durch Pankreatin erhalten werden, einen Ash ähnlichen Symptomenkomplex provozieren können. Zwar macht Doerr die richtige Einwendung, daß die Geschwindigkeit, mit welcher die Erkrankung der Antigeneinführung folgt, auf die Beteiligung von Primären, d. h. hochmolekulären Eiweißabbauprodukten an dem Prozeß, weist; dieselben aber, d. h. die Proto-, Deutero- und Heteralbumosen, die auch Friedberger erwähnt, haben sich als ungiftig erwiesen oder besitzen eine geringe Giftigkeit und verursachen Erkrankungen, die nichts mit Ash gemeinsam haben. Die Protamine und Kirine sind gleichfalls ungiftig, nur die Zwischen- und Endprodukte der Verdauung sind in hohem Grade toxisch und verursachen mit Ash identische Erkrankungen. Ein gleicher logischer Prozeß führte auch andere Forscher (Weichhardt, de Waele, Biedl u. Kraus) zu demselben Schluß; die Autoren betrachten die Peptonvergiftung als eine dem Ash ähnliche oder mit demselben identische Erscheinung, weil sie das Pepton oder die demselben beigemischten Abbauprodukte für das Ash provozierende Gift halten. Die Identifizierung dieser Stoffe mit dem anaphylaktischen Toxin wurde noch dadurch bestätigt, daß dieselben nicht nur allgemeine Shocksymptome verursachten, sondern auch Symptome lokaler Anaphylaxie (das Phänomen von Arthus), was H. Pfeiffer bereits demonstriert hat; isolierte Muskelorgane reagieren auf die Einführung solcher Stoffe ebenso wie auf Einführung von Antigen; die Stoffe besitzen auch die Eigenschaft, bis zu einem gewissen Grade einander zu neutralisieren (Ash schützt vor Peptonshock und umgekehrt) und verursachen eine Verminderung des Komplementgehaltes. Ich habe diese Fakten vom Gesichtspunkt der Metaballodispersionstherapie bereits oben[1]) kritisch analysiert und zu zeigen gesucht, daß sie kein günstiges Material für die Bestätigung der Theorie von Friedberger geben. Es ist höchst interessant, daß in letzter Zeit Friedberger selbst, indem er glaubt, durch das Gewinnen von Anaphylatoxin in vitro die Möglichkeit einer Bildung von anaphylaktischem Gift außerhalb des Tierorganismus erwiesen zu haben, folgende Meinung äußert: „das scheinbare Reproduzieren der anaphylaktoähnlichen Symptome, welches

1) Ein Teil dieser Ausführungen, welche die Uebereinstimmung der Antianaphylaxie mit der Metaballodisperstheorie dartun sollten, mußte auf Wunsch der Schriftleitung aus Raummangel fortgelassen werden.

mit Hilfe von Eiweißabbauprodukten erzeugt werden kann, stellt heutzutage kein überzeugendes Argument vor", weil man der Einheit der bei Ash und bei der Einführung dieser Stoffe entstehenden Symptomenkomplexe nicht zu große Bedeutung zuschreiben darf; denn es ist eine gleiche Symptomeneinheit auch bei intravenöser Einführung von mehreren organischen und anorganischen Stoffen, die in keinem Verhältnis zu den Immunitätsphänomenen stehen, konstatiert worden; man darf auch nicht die nach einer Vergiftung eintretende Resistenzperiode mit der für Anaphylaxie spezifischer Antianaphylaxie identifizieren.

Das Anaphylatoxin, „ein akut wirkendes Gift, welches in vitro aus denselben Komponenten gewonnen wird, welche auch im lebendigen Organismus am Prozeß beteiligt werden", ist, nach Friedbergers Ansicht, „mit dem Gift identisch, welches bei aktiver und passiver Anaphylaxie entsteht"; solches Identifizieren wird durch folgende Verhältnisse bedingt: 1) die Gleichheit der Symptome der Anaphylatoxinvergiftung mit denen bei aktiver und passiver Anaphylaxie, darunter Temperatursinken, langsames Blutgerinnen, Leukopenie und die Identität des anatomischen Bildes bei diesen Prozessen, 2) die für das Gewinnen des Giftes in vitro erforderliche Menge Antigen übertrifft nur unbedeutend die für das Entstehen von aktiver oder passiver Anaphylaxie erforderliche Menge desselben. So hält Friedberger die Argumente, welche nach seiner eigenen Aeußerung ungenügend sind, um das anaphylaktische Gift mit Eiweißabbauprodukten zu identifizieren, als vollkommen genügend, um das erstere mit Anaphylatoxin zu identifizieren! Es ergibt sich aus den Arbeiten Friedbergers, daß, um Anaphylatoxin zu gewinnen, die Anwesenheit „derselben Komponenten, die auch im lebendigen Organismus am Prozeß beteiligt werden", erforderlich ist. Doch inwieweit stimmt diese Annahme mit den reellen Tatsachen? Zunächst hat Friedberger Anaphylatoxin in vitro aus Pferdeserum, Antipferdeserum und Komplement enthaltendem Meerschweinchenserum gewonnen. Später ist indes von mehreren Autoren, darunter auch von Friedberger, erwiesen worden, daß die Anwesenheit von Antikörper enthaltendem Immunserum entbehrlich ist, und daß letzteres durch Normalserum ersetzt werden kann, z. B. durch dasselbe Meerschweinchenserum, welches wir als Komplement gebrauchen. Also kann Anaphylatoxin in vitro ohne Immunkörper erhalten werden, im Gegensatz zu dem in vivo vor sich gehenden Prozeß. Zwar vermutet Friedberger die Anwesenheit von Normalantikörpern in jedem Serum, jedoch muß eine Anwesenheit von unendlich großen Mengen von Antikörpern gegen jedes beliebige Antigen, dessen sich der Autor bedient hat, a priori als unmöglich betrachtet werden; sie ist auch durch keinen der mit mehreren Antigenen angestellten Versuche konstatiert worden. Ich brauche nur meine eigenen Versuche zu berücksichtigen und kann zeigen, daß Meerschweinchenserum weder Präzipitation noch Komplementbindung in Gegenwart von Ratten-, Mäuse-, Hammel-, Ziegen-, Pferde-, Hühner- und Taubenserum verursachen konnte, obgleich alle die genannten Sera, wie in meinen Versuchen[1]) so auch in denen anderer Autoren, bei Anaphylatoxingewinnung sich als „Antigen" verhielten.

Dies stimmt auch mit den Untersuchungen von Moreschi u. Vallardi überein, die dargetan haben, daß Normalserum, auch nach-

1) Nicht publizierte Untersuchung.

dem alle in ihm vorhandenen Antikörper von entsprechenden Bakterien adsorbiert sind, fähig ist, mit dem gleichen Antigen Anaphylatoxin zu bilden. So kann Anaphylatoxin aus Antigen und Komplement ohne Beteiligung von Antikörpern gewonnen werden, im Gegensatz zu dem Prozeß, welcher beim Entstehen aktiver oder passiver Anaphylaxie stattfindet; durch diese Tatsache wird die feste Basis umgestürzt, auf der Friedbergers Theorie ruht. Dieselbe Frage muß auch im Verhältnis zum Antigen gestellt werden: Ist die Anwesenheit von Antigen unbedingt erforderlich, damit ein komplemententhaltendes (nur so kann heutzutage die Frage formuliert werden) Serum Anaphylatoxin bilden kann? Die zahlreichen Autoren, die in ihren Untersuchungen diese Frage zu beantworten versucht haben, stehen bisher auf zwei entgegengesetzten Standpunkten. Hier besteht keine Meinungsverschiedenheit zwischen zwei Gruppen von Gelehrten, sondern zwischen zwei Theorien: der chemischen und der physikalisch-chemischen Auffassung der Immunitätsprozesse. Für Friedberger und seine Schule ist es ein Kampf auf Leben und Tod, denn nur eine Bestätigung des von ihm vermuteten Mechanismus der Anaphylatoxinbildung kann seine Theorie am Leben erhalten; darum verteidigt Friedberger so energisch und systematisch die von ihm früher geäußerten Ansichten. Jedoch hat Bordet erwiesen, daß frisches Meerschweinchenserum, nachdem es mit Agar gemischt worden ist, alle Eigenschaften eines Anaphylatoxins besitzt; die gleiche Wirkung haben außer Agar auch Stärke (Nathan), Inulin (Nathan u. Sachs), Pektin (Kopaczewsky u. Mutermilch). Alle genannten Stoffe sind keine Antigene, woraus folgt, daß Anaphylatoxin ohne Anwesenheit von Antigen — also ohne Eiweißstoff — gebildet werden kann, d. h. wenn kein für einen Verdauungsprozeß notwendiges Substrat vorhanden ist. Friedbergers Kritik der erwähnten Versuche besteht darin, daß er 1) in allen Stoffen eine Beimischung von Eiweiß annimmt, bei dessen Abbau das Anaphylatoxin gebildet wird, und 2) daß er die Wirkung eines rein mechanischen Momentes vermutet, nämlich Embolien mit Resten von Gel, welche beim Zentrifugieren nicht entfernt worden sind. Was Pektin anbetrifft, bestreiten Kopaczewsky u. Mutermilch die Möglichkeit einer Beimischung von irgendwelchen Eiweißspuren; für die anderen adsorbierenden Stoffe hat Doerr die richtige Berechnung gemacht, daß, wenn der ganze im Agar (1,64 Proz.) und in der Stärke (0,2 Proz.) anwesende Stickstoff vom Eiweiß herrühren sollte, solcher Gehalt (0,000 0082 für Agar und 0,000 0001 für Stärke) zu gering wäre, um eine Bildung von Anaphylatoxin aus demselben vermuten zu können, da die kleinste Dosis Pferdeserum, aus der Anaphylatoxin gewonnen werden kann, nicht kleiner als 0,0005 ccm sein darf. Löwit u. Bauer haben Agar durch Trypsinverdauung und nachfolgende Dialyse so von Eiweiß befreit, daß weder die Ninhydrinprobe noch die Reaktion von Lasseigne positiv waren, und daß der Agar, was am meisten überzeugend ist, seine sensibilisierenden Eigenschaften verloren hatte; jedoch konnte ein derartiger Agar ebenso gut wie der native zur Bildung von Anaphylatoxin dienen. Lewy u. Dold, Dold u. Aoki gelangen in anderer Weise zu dem Ergebnis, daß Antigen an der Anaphylatoxinbildung nicht beteiligt ist; sie haben erwiesen, daß Bakterien nach wiederholter Behandlung mit Serum die Fähigkeit verlieren, Anaphylatoxin zu bilden, jedoch ihre sensibilisierenden Eigenschaften behalten, woraus sich ergibt, daß Anaphylatoxin nicht aus Antigenstoffen stammt.

Es ist also anzunehmen, daß für das Entstehen von Anaphylatoxin weder Antigen noch Antikörper erforderlich sind, sondern ein inaktiviertes Serum und ein kolloidaler Stoff, welcher die „Antagoniststoffe" adsorbiert (Ritz u. Sachs) und damit die primäre Toxizität des Serums wiederherstellt (Doerr, Bauer) oder, nach meiner Terminologie, dasselbe physikalisch-chemisch aktiv macht und befähigt, den Dispersionsgrad der tierischen Kolloide zu verändern. Es ist bemerkenswert, daß sogar die Anerkennung der physikalisch-chemischen Wirkung der Kolloide beim Ash, eine Kompromißtheorie, wie die von Ritz u. Sachs, wieder auftauchen kann. Die Autoren betrachten das anaphylaktische Gift als ein Produkt der Spaltung von Serumeiweißstoffen, welche nach Adsorption des „Antagoniststoffes" eintritt. Die Bildung von Anaphylatoxin und die Pathogenese der durch dasselbe verursachten Erkrankung sind also nichts anderes wie physikalisch-chemische Phänomene. Nachdem die von uns formulierten Sätze als festgestellt gelten können, ist die Frage, ob bei der Bildung von Anaphylatoxin das Komplement oder andere thermolabile Stoffe adsorbiert werden, nur von geringem Interesse. Ist die Antagonistentheorie mit meiner Korrektion, welche den Mechanismus der Anaphylatoxinbildung und gleichfalls die Pathogenese seiner Wirkung erklärt, anerkannt — dann hat vom Gesichtspunkt der Metaballodisperstheorie die Frage, welche der adsorbierten Kolloidenkomplexe ein Träger von Antagoniststoffen war, nur geringe Bedeutung. Ich bin jedoch der Meinung, daß im Prozeß der Anaphylatoxinbildung außer dem Komplement noch eine Reihe anderer Kolloidkomplexe adsorbiert wird, und bin mit Heren darin einverstanden, daß eine Vernichtung des Komplements durch andere Methoden das Meerschweinchenserum nicht toxisch macht. In Verbindung mit diesen Tatsachen äußert Friedberger die Meinung, daß jedes Anaphylatoxin produzierende Serum unbedingt Eiweißabbauprodukte enthalten müsse. Doch konnten derartige Stoffe bisher außer von Friedberger (Friedberger u. Mita) von keinem anderen Forscher entdeckt werden (Pfeiffer u. Mita, Pfeiffer u. Jarisch, Abderhalden, Hirschfeld u. Klinger, Donati).

Friedbergers Theorie von dem Mechanismus des Ash steht in naher Verbindung mit denen, welche fermentative Theorien genannt werden können, jedoch haben letztere auch eine gewisse Proximität zu den physikalisch-chemischen Theorien.

Die fermentativen Theorien (Salus, H. Sachs, Danysz u. Jobling) basieren auf der Annahme, daß eine Antigenantikörperverbindung die Fähigkeit besitzt, die gleichzeitig mit den entsprechenden Fermenten im Plasma anwesenden proteolytischen Antifermente zu adsorbieren; solche Adsorption macht die proteolytischen Fermente fähig, das eingeführte Antigen, hauptsächlich aber das eigene Serumeiweiß des Versuchsorganismus zu verdauen, wodurch ein Ash provoziert wird. Manche Forscher, besonders Löwit, weisen darauf hin, daß, wenn die zuvor genannten Prozesse stattfinden und die Fermente die Möglichkeit erhalten, fremdes und eigenes Eiweiß zu spalten, und wenn infolgedessen Spaltprodukte gebildet werden, solche Prozesse nur als die Toxikose begleitende, nicht als ihre Ursache betrachtet werden müssen, da Spaltprodukte auch bei mehreren Normaltieren und bei Meerschweinchen nach der Sensibilisierung nachzuweisen sind, ohne daß sie irgendeinen krankhaften Prozeß erregten. Mit einer solchen Erklärung bin ich einverstanden. Die fermentativen Theorien betrachten

Ash als einen ausschließlich in der Blutbahn verlaufenden Prozeß; derselben Meinung ist auch Friedberger, mit dem einzigen Unterschied, daß nach seiner Ansicht nur von außen eingeführtes Antigen, nicht eigenes Eiweiß, zum Objekt einer fermentativen Verdauung werden könne. Dale ist durch seine Versuche mit isolierten Organen zu dem Schluß gekommen, daß die erwähnten Prozesse auch auf dem Zellterritorium stattfinden können; dagegen spricht aber das ausschließlich schnelle Reagieren der isolierten Organe, welches mit der bekannten Tatsache, daß für jeden fermentativen Abbau ein gewisser Zeitraum notwendig ist, in Widerspruch steht und erst dann begreiflich wird, wenn man die Wirkung eines fertigen „Giftes" zuläßt. Auch ich habe einst geäußert, daß solche Prozesse, wie parenchymatöse und wachsartige Degeneration und wie die Nekrose der parenchymatösen Zellen und der Ganglienzellen, die bei Anaphylaxie und anderen Metaballodispersprozessen (Kritschewsky u. v. Friede) sich in wenigen (1—4) Minuten abspielen, keineswegs durch ein Gift im direkten Sinne des Wortes verursacht sein können.

Wir haben uns schon überzeugen können, daß die rein chemische Theorie des Ash das Phänomen nicht in befriedigender Weise erklären konnte, weshalb physikalisch-chemische Prozesse herangezogen wurden; jedoch spielen die letzteren nur eine Hilfsrolle, indem sie für chemische Reaktionen den Weg räumen.

Herzfeld u. Klinger haben sich überzeugen können, daß bei Anaphylatoxinbildung die Bakterien das Cythosym (Thrombokinase)[1]) adsorbieren, und vermuten denselben Prozeß auch bei anderen Methoden der Anaphylatoxingewinnung; infolgedessen betrachten sie die Anaphylatoxinvergiftung und den Ash, bei dem dem Antigen oder dem Antigen + Antikörper dieselbe Adsorbierungsfunktion zugeschrieben wird, als eine Folge des Umstandes, daß dem Blute die für den Gerinnungsprozeß verbundenen Stoffe entzogen worden seien.

Es ist nicht ohne weiteres verständlich, wie eine solche Theorie die Pathogenese der Anaphylatoxinvergiftung und des Ash erklären könnte, da aus den von den Autoren angeführten Argumenten nicht hervorgeht, in welcher Weise der Umstand, daß dem eingeführten Stoff (Anaphylatoxin) oder dem Versuchstierserum einer der bei Gerinnungsprozessen beteiligten Stoffe entzogen wurde, einen krankhaften Prozeß verursachen könnte. Die Sache wird verständlicher, wenn man das Cythosym mit dem Lecithin des Serums (Bordet u. Delange) und das Lecithin mit Antitrypsin (Jobling) identifiziert.

Doerr dagegen nimmt an, daß die Toxizität des Anaphylatoxins mit dem Gehalt an Thrombokinase (Cythosym, Thrombin) in Verbindung steht. Durch die Anwesenheit derselben sucht er die Toxizität des frisch defibrinierten Blutes und die des nativen Serums, welche jedoch nach dem Befreien der Antagonisten bald vergeht, zu erklären; bei der Bildung von Anaphylatoxin werden die erwähnten Antagonisten adsorbiert, weshalb das Anaphylatoxin lange Zeit toxisch bleibt. Nach Doerr hängt der Ash von dem Aktivieren der Gerinnungsfermente durch die bei der Antigeneinführung stattfindende Adsorption der Antiantagonisten ab. Dabei äußert er, daß die Ursache des Ash

1) Weil solche cythosymierten Bakterien, wenn sie zu einem Serosym (Thrombogen), Fibrinogen und Kalziumionen enthaltendem Medium zugesetzt werden, ein Gerinnen desselben verursachen. (Cythosym + Serosin in Gegenwart von Kalziumionen bilden das Fibrinferment.)

nicht in mechanischen Momenten, wie Verstopfungen durch Thromben des Herz- und Gefäßlumens, sondern in der Toxizität des aus dem Plasma gebildeten Serums liege; er sieht eine Bestätigung seiner Meinung in der Unmöglichkeit, Gewebskulturen in Serum zu erhalten. Ungefähr gleiche Meinungen sind von v. Behring und Kretschmer und Besredka geäußert worden.

So sieht denn eine humorale Theorie die Ursache des Ash in der Abnahme des Cithosims, die andere dagegen sieht dieselbe in der Beseitigung aller Momente, welche die Wirkungsfähigkeit des Cithosims stören könnten.

Ich kann mich keiner der beiden Theorien anschließen, da sie ausschließlich auf humoralem Standpunkt basiert sind; sie schreiben ferner dem physikalisch-chemischen Prozesse nur eine Hilfsrolle zu und ignorieren die aktive Rolle, welche diese Prozesse bei der Pathogenese und dem Symptomenkomplex des Ash spielen, gänzlich.

Die Ansicht von Nolf stimmt teilweise mit den soeben dargestellten Theorien überein. Der Autor hält Eiweißstoffe und Peptone für thromboplastische Agentien, deren Einführung ins Blut das labile Gleichgewicht der Kolloide stört und zu einem Ausscheiden von Fibrin auf Leukozyten und Endothelzellen führt; diese besitzen eine besondere Verwandtschaft zu fremdem Eiweiß und Peptonen, weshalb sie auch leicht beschädigt oder abgetötet werden. Bei sensibilisierten Tieren ist infolge der Anwesenheit von Antikörpern solche Verwandtschaft der Endothelzellen noch mehr gesteigert; deshalb entsteht die Fibrinausscheidung auf Endothelzellen weit schneller und verläuft intensiver als bei unsensibilisierten Tieren, wodurch die Zellen auch weit schneller und stärker gestört werden. Als direkte Folge der erwähnten Prozesse findet eine gesteigerte Produktion von Antithrombosin durch Endothelzellen statt; dieses Phänomen, gleichfalls wie der Verbrauch des Fibrinogens, verursacht eine Ungerinnbarkeit des Blutes bei Peptonvergiftung und Ash. Die Verminderung der Zahl der Leukozyten kann durch ihr Ankleben auf dem Endothel erklärt werden. Oedem und Nekrose bei lokaler Anaphylaxie sind als eine Folge der Endothelverletzungen oder einer Thrombosierung der Gefäße infolge der Endothelbeschädigungen zu betrachten. Infolge einer Reizung des Gefäßendothels tritt eine Abnahme des Blutdrucks ein, durch welche der Tonus der Gefäßmuskulatur stark beeinflußt wird.

Aus den Untersuchungen von Kritschewsky u. v. Friede erweist sich, daß Nolfs Ansicht nicht zutrifft; die Gewebsschädigungen und Nekrosen treten unabhängig von Thrombosen auf und werden durch unmittelbare Wirkung des physikalisch-chemisch aktiven Agens auf die Zellen verursacht. Dies ergibt sich auch aus dem Umstande, daß die erwähnten Leiden wiederholt Thrombosen vermissen lassen, und daß die durch letztere verursachten Zelldegenerationen einen relativ langsam verlaufenden Prozeß darstellen; bei unseren Versuchen dagegen waren Degenerationen und Nekrosen der Zellen der parenchymatösen Organe und des Nervensystems in wenigen Minuten (1—4 Min.) eingetreten.

Die Verminderung der Leukozytenzahl ist, wie ich schon erwähnt habe, ein Ausdruck des von Nolf beschriebenen Prozesses und auch eine Folge ihrer Zerstörung durch Metaballodispersagentien. Die Abnahme des Blutdrucks und die im Temperaturhaushalt des Organismus eintretenden Störungen sind meist unabhängig von den Momenten, welche Nolf als ihre Ursacher betrachtet; die Ursache dieser Erscheinungen

liegt in der Störung oder Vernichtung der entsprechenden Zentren des Nervensystems; eine anatomische Begründung dieses Satzes ist von uns schon gegeben worden.

Die soeben dargestellte Theorie bedeutet im Vergleich zu der von Doerr, mit welcher sie viel Gemeinschaftliches hat, in zwei Hinsichten einen großen Fortschritt: 1) sie nähert sich einem richtigen Begreifen der Einheit der physikalisch-chemischen Wirkung von Antigen im sensibilisierten Organismus, von Eiweißstoffen und anderen physikalisch-chemischen Agentien (Pepton), 2) sie zeigt, welche wichtige Rolle die im Endothel eintretenden zellulären Veränderungen spielen.

Indes können wir auch Nolfs Theorie nicht beitreten, und zwar aus folgenden Gründen: 1) Sie hat einen humoralen Charakter und betrachtet den Shock in allen seinen Phasen als Resultat physikalisch-chemischer Prozesse, die ausschließlich im Blute entstehen; sogar die Endothelverletzungen werden durch den Umstand erklärt, daß diese Zellen dem Blute angrenzen; 2) sie betrachtet alle Organismuszellen, mit Ausnahme des Endothels, als ungeschädigt, und hält es daher für möglich, daß eine so schwere Erkrankung wie ein Ash oder der Tod an demselben ausschließlich durch Blutveränderungen und durch sie verursachte Endothelverletzungen hervorgerufen werden kann; 3) die Natur der im Endothel eintretenden Veränderungen erhält keine Erklärung, da der Nachweis einer Fibrinausscheidung auf dasselbe keine unmittelbare Verletzung des Endothels anzunehmen erlaubt; solche Verletzung kann nur als eine sekundäre betrachtet werden, gleichfalls wie die in allen Organen infolge der Endothelverletzungen entstandenen Veränderungen; 4) die physikalisch-chemischen Veränderungen des Blutes werden nicht genauer konkretisiert, und die Definition des im Blute entstehenden Prozesses als eine Störung des labilen Gleichgewichts der Kolloide hat keine reelle Bedeutung[1]).

In der vorliegenden Arbeit habe ich mir als Ziel gestellt, die Grundlagen der Metaballodispersstheorie des Ash darzustellen und gleichzeitig zu demonstrieren, daß diese Erkrankung, trotz der besonderen Verhältnisse, unter denen sie entsteht, nur eine nosologische Form unter mehreren anderen gleichen Erkrankungen darstellt; die Ursache all dieser Erkrankungen liegt in Veränderungen des Dispersionsgrades der Kolloide des Zellprotoplasmas und teilweise auch des Blutes, das vom histologischen Gesichtspunkt aus von anderen Geweben nicht abzu-

1) Der Mechanismus der toxischen Wirkung fremder Seren wird von mehreren Autoren, die sich den Ansichten von Doerr und Nolf anschließen, als Folge der in den Gefäßen eintretenden Blutgerinnung betrachtet. Manche Sera verursachen außer Blutgerinnung auch Hämolyse oder Hämagglutination oder beide Phänomene gleichzeitig (Kraus u. Müller).

Nach 1—2stünd. Aufenthalt bei 56—58° verliert ein Serum seine Toxizität · die Metaballodispersstheorie erklärt dieses Phänomen dadurch, daß das Serum durch Temperatureinfluß seiner physikalisch-chemischen Aktivität beraubt wird. Meine Erklärung wird von der Tatsache bestätigt, daß die Fähigkeit des Pferdeserums und wahrscheinlich auch jedes anderen Serums, Ash zu erzeugen, je nach der Intensität der durch Temperatursteigerung verursachten Veränderungen der räumlichen Anordnung der Kolloidmoleküle im Dispersionsmedium modifiziert wird; je trüber das Serum beim Erwärmen wird, d. h. je radikaler die in der räumlichen Anordnung der Moleküleaggregate in der Dispersionsphase eingetretenen Veränderungen sind, desto mehr verliert das Antigen seine physikalisch-chemische Aktivität und die Fähigkeit, einen Ash zu provozieren; seine sensibilisierenden Eigenschaften bleiben dabei intakt. Infolge gleicher Verhältnisse haben auch manche Eiweißderivate, z. B. Synalbumosen, eine sensibilisierende Wirkung, obwohl sie kein Ash provozieren können.

sondern ist, da es von denselben nur durch seinen flüssigen intrazellulären Stoff differiert. Gleichzeitig habe ich versucht, alle Symptome des Ash, d. h. nicht nur das klinische Bild, sondern auch den ganzen Symptomenkomplex dieses Phänomens vom Gesichtspunkt der von mir dargestellten Theorie zu erklären. Dabei war es nicht zu vermeiden, auch andere Ansichten und Theorien einer kritischen Analyse zu unterwerfen.

Zusammenfassung.

1) Die Metaballodisperstheorie betrachtet als Ursache des anaphylaktischen Symptomenkomplexes die im lebenden Organismus entstehenden Veränderungen des Dispersionsgrades der Kolloide teils im Blute, hauptsächlich aber im Zellprotoplasma.

2) Die Metaballodisperstheorie basiert auf der Feststellung des Komplementtiters vor und nach der „Probe", der Veränderungen des Dispersionsgrades der Blutkolloide und der Abnahme oder Steigerung des Dispersionsgrades des Zellprotoplasmas, welche durch histologische Untersuchung nachweisbar sind.

3) Die Metaballodisperstheorie nimmt an, daß jede Zelle des einen anaphylaktischen Shock erleidenden Organismus einem mikroskopischen, mit Kolloiden gefüllten Reagenzglas ähnlich wird, in welchem beim Begegnen der zwischen den Kolloiden zirkulierenden Antikörper mit ihrem Antigen derselbe Prozeß, d. h. dieselbe Veränderung der räumlichen Anordnung der Kolloidaggregate und die dadurch verursachte Zelldestruktion, entsteht, welcher im makroskopischen Reagenzglas bei Präzipitation, Agglutination oder Hämolyse, d. h. bei dem Reagieren mit den entsprechenden Antigenen, stattfindet.

4) Die Metaballodisperstheorie äußert in einer kategorischen Form, daß physikalisch-chemische Agentien (Antigen im sensibilisierten Organismus) unmittelbar auf das Gewebe wirken, nicht die infolge der im Organismus eingetretenen physikalisch-chemischen Störungen entstandene Noxe.

Die Theorie vermeidet, den Ausdruck „Gift" zu gebrauchen, nicht weil ein über den Dispersionsgrad der Kolloide störendes physikalisch-chemisches Agens nicht hätte „Gift" genannt werden könne, sondern weil es üblich ist, durch solchen Ausdruck Stoffe zu bezeichnen, die eine bestimmte, ausschließlich chemische Wirkung haben.

5) Viele Toxikosen haben eine gleiche Pathogenese. Die anaphylaktische Toxikose unterscheidet sich von allen anderen Vergiftungen dadurch, daß bei derselben der eine Dispersionsgradveränderung verursachende Stoff ein Produkt der Immunisierung des Organismus vorstellt.

Dementsprechend betrachtet die Metaballodisperstheorie den anaphylaktischen Shock keineswegs als ein ausschließlich von allen übrigen

pathologischen Prozessen isoliert stehendes Phänomen; sie plaziert denselben in die große Gruppe der anderen Erkrankungen mit gleicher Pathogenese, von denen der anaphylaktische Shock nur durch sein besonderes eigenartiges Entstehen differiert.

Nachdruck verboten.

Beobachtungen über herabgesetzte Haltbarkeit präzipitierender Antisera.

[Aus der bakteriologischen Abteilung (Serologisches Laboratorium) des Reichsgesundheitsamtes.]

Von **H. Beger,** Berlin.

Uhlenhuth (1, 2) hatte im Anfang zur Aufbewahrung der präzipitierenden Antisera den Zusatz von chemischen Konservierungsmitteln verwendet, von denen er besonders das Chloroform und 0,5proz. Karbolsäure empfahl, wobei „die Sera viele Monate gleich unverändert wirksam blieben". Auch Biondi (3) konnte mit Chloroform versetzte Antisera monatelang aufbewahren, „ohne daß sich ihre Aktivität verminderte". Bei längerem Stehen verloren jedoch solche mit den üblichen Konservierungsmitteln versetzte Antisera ihre Wirksamkeit meist in erheblichem Maße. So berichten Uhlenhuth und Weidanz (4, 5), daß die präzipitierende Wirkung von mit Chloroform konservierten Antiseren nach 4 Jahren vollkommen geschwunden war. Auch bei der von Corin (6), Biondi (3), Jacobsthal (7) und von Eisler (8) empfohlenen Austrocknungsmethode ist nach den Untersuchungen von Ziemke (9) „ein allmählicher Verlust an Wirksamkeit" festzustellen. Diese Erfahrungen haben Uhlenhuth veranlaßt, für die Konservierung der präzipitierenden Antisera die Sterilfiltration mittels Berkefeld-Kerzen und Einschmelzung in sterile Röhrchen vorzuziehen. Solche steril gewonnene Antisera halten sich nach den Angaben von Uhlenhuth und Weidanz (4, 5), sofern sie im Eisschrank und vor dem schädlichen Einfluß des Lichtes geschützt aufbewahrt werden, „ohne eine nennenswerte Abschwächung zu erfahren, oft jahrelang brauchbar". Weidanz (10, 11) konnte bei 35 verschiedenen Menschen-, Pferde- und Rinderantiseren, die in dieser Weise aufbewahrt worden waren, trotzdem sie monatelang bei Zimmertemperatur auch während des Sommers im Laboratorium gestanden hatten und öfters stundenlang dem Einfluß des Sonnenlichtes ausgesetzt gewesen waren, bei der nach 5 Jahren vorgenommenen Titerprüfung „kaum eine nennenswerte Abschwächung ihrer Wirksamkeit feststellen". Auch Friedberger und Jarre (12) berichten über ein in gewöhnlichem zugeschmolzenen Reagenzglas steril aufbewahrtes Hirsch-Antiserum, das nach fast 9 Jahren noch bis zum ursprünglichen Titer reagierte. Doch ist nach den Erfahrungen dieser Autoren diese lange Haltbarkeit der Präzipitine „allerdings auch nicht immer vorhanden". Sie haben im Gegenteil in der letzten Zeit gar nicht selten gesehen, daß der Titer präzipitierender Antisera von 1:20000 innerhalb von 3 Monaten vollkommen geschwunden war. Von Straßmann (13, 14) ist zur Konservierung von forensischen Seren und Anti-

seren für die gerichtliche Praxis die Verwendung des von Hinz (15, 16) vorgeschlagenen Yatrens empfohlen worden, wobei die Antisera unbegrenzte Zeit klar blieben und eine Abnahme des Titers „nicht rascher als bei ohne Zusatz aufbewahrten Antiseren" erfolgte. Ein mit Yatren versetztes Rinderantiserum hatte bei der nach 2 Jahren vorgenommenen Nachprüfung denselben Titer wie bei der Herstellung. Neuerdings ist von mir (16) zur Konservierung der präzipitierenden Antiseren eine Methode empfohlen worden, bei der durch Einwirkung von metallischem Kupfer (Schablonenblech) eine Sterilisierung der Antisera erfolgt. Ueber die Haltbarkeit derartiger „gekupferter" Antisera hinsichtlich sich über Jahre erstreckender Zeiträume können noch keine Angaben gemacht werden. Weitere Mitteilungen über die Haltbarkeit der präzipitierenden Antisera habe ich in der mir zugänglichen Literatur nicht finden können.

Da auch wir in der Zeit nach dem Kriege öfters Beobachtungen machen mußten, daß einzelne im Reichsgesundheitsamt von uns hergestellte Antisera ungewöhnlich rasch eine erhebliche Abnahme ihres Wertgehaltes zeigten, so habe ich im Hinblick auf die praktische Bedeutung dieser Frage eine größere Anzahl von präzipitierenden Antiseren darauf untersucht, ob bezüglich der von Uhlenhuth und Weidanz (4, 5) festgestellten langen Haltbarkeit der präzipitierenden Antisera in der letzten Zeit eine Aenderung eingetreten ist.

Für diese Untersuchungen standen Proben zur Verfügung von im ganzen 65 präzipitierenden Antiseren, die in den Jahren 1920 bis 1922 im Serologischen Laboratorium der bakteriologischen Abteilung des Reichsgesundheitsamtes (Laboratoriumsvorsteher: Ober-Reg.-Rat Dr. Manteufel) zur Abgabe an andere Dienststellen von mir hergestellt worden waren. Von diesen Antiseren waren 8 Menschen-, 17 Pferde-, 13 Schweine-, 8 Rinder-, 14 Hammel- und 5 Ziegenantisera. Die Antiseren waren nach der im Reichsgesundheitsamt üblichen Weise durch mehrmalige Injektion von möglichst frischem Serum als Antigen gewonnen worden. Sobald der Titer die für praktische Zwecke erforderliche Höhe von 1:20000 erreicht hatte, wurden die Versuchstiere entblutet, und die Sera durch frisch sterilisierte Berkefeld-Kerzen filtriert, in gewöhnliche braungefärbte, sterile Uhlenhuth-Röhrchen abgefüllt und sofort zugeschmolzen. Nach der Filtration stellt sich meistens ein Rückgang in der Intensität der Reaktion ein, so daß der Titer auch ursprünglich höherwertiger Antisera nach der Filtration nur noch 1:20000 betrug. Stärker abgeschwächte Antisera — ein Mißstand, der beim Filtrieren durch Berkefeld-Kerzen bekanntlich hin und wieder zu beobachten und leider unvermeidbar ist — wurden von vornherein von der weiteren Verwendung ausgeschlossen und sind bei diesen Untersuchungen nicht berücksichtigt.

Die Aufbewahrung der abgefüllten Röhrchen erfolgte in einem Kühlschrank ohne Eisfüllung vor Licht geschützt in einem Raum, der weder im Sommer noch im Winter starken Temperaturschwankungen ausgesetzt war. Die Nachprüfung fand im Januar 1924 statt und wurde in der gleichen Weise vorgenommen, wie seinerzeit die Austitrierung der Antisera stattgefunden hatte.

Von den untersuchten 65 Antiseren waren bei makroskopischer Betrachtung nur 25 klar geblieben, die übrigen 40 Antisera zeigten mehr oder weniger starke Trübungen, die jedoch durch scharfes Zentrifugieren in jedem Fall ausgeschleudert werden konnten und nicht

bakterieller Natur waren. Unter diesen Antisera hatten nur 8 ihren Titer annähernd unverändert gehalten, 5 davon waren relativ jüngeren Ursprunges und noch nicht ganz 2 Jahre aufbewahrt. Die Mehrzahl der 57 abgeschwächten Antisera war mehr oder weniger stark getrübt, so daß man an einen Zusammenhang der Abnahme des Präzipitingehaltes mit dem Auftreten von Ausfällungen und Trübungen denken könnte. Für diese Annahme spricht in gewissem Sinne auch, daß 6 von den 8 Antiseren mit unvermindertem Titer durchaus klar geblieben waren. Andererseits hatten aber auch 21 Antisera, die keine Ausfällungen aufwiesen, trotzdem erheblich an Titer verloren. 39 von den 57 abgeschwächten Antiseren reagierten meist schwach nur noch bis zu den Verdünnungen 1:10000 bzw. 1:1000. 18 ältere Antisera ließen überhaupt jeglichen Präzipitingehalt vermissen. Diese Erfahrungen weichen ganz erheblich von den Uhlenhuth-Weidanzschen Befunden über die durchschnittlich unverminderte Haltbarkeit der präzipitierenden Antisera ab. Zwar haben auch bei diesen Untersuchungen einzelne Antisera ihren Titer unverändert in der Beobachtungszeit erhalten, aber das sind doch so wenige Fälle, daß sie gleichsam Ausnahmen von der Regel darstellen.

Da die Herstellung, Konservierung und Aufbewahrung der präzipitierenden Antisera im Reichsgesundheitsamt im allgemeinen etwa noch in der gleichen Weise erfolgt, wie sie Uhlenhuth und Weidanz (4, 5) früher angegeben und ausgeführt haben, so muß für diese Erscheinung, wenn man von einer Aenderung der Eigenschaften der zur Herstellung der Antisera benutzten Versuchstiere absieht, noch ein anderer besonderer Grund vorliegen. Es liegt dabei die Annahme nahe, daß den bei der Aufbewahrung der Antisera verwendeten Glasröhrchen eine ursächliche Bedeutung dafür zukommt. Auf den Einfluß von minderwertigen Glassorten bezüglich der Haltbarkeit der Präzipitine hat Uhlenhuth (17, 18) in einer Diskussionsbemerkung zu dem Vortrag von Weidanz über die Konservierung der präzipitierenden Antisera auf der 2. Tagung der Freien Vereinigung für Mikrobiologie in Berlin 1908 bereits hingewiesen. Auch Friedberger und Jarre (12) glauben, für die mangelhafte Haltbarkeit der präzipitierenden Antisera „vielleicht die jetzige schlechtere Beschaffenheit des Glases" verantwortlich machen zu sollen. Daß minderwertige Glassorten erhebliche Mengen Alkali an Flüssigkeiten abgeben, die in solchen Glasgefäßen aufbewahrt werden, ist eine bekannte Tatsache. Ebenso steht nach den Untersuchungen von Uhlenhuth (2) fest, daß die biologische Reaktion in Eiweißverdünnungen, die mit alkalischen Salzlösungen (Soda, Natrium bicarbonicum, Borax usw.) hergestellt sind, „bei Zusatz des Antiserums zwar eintritt, daß sie aber ganz wesentlich bezüglich der Intensität und Schnelligkeit des Auftretens beeinträchtigt wird". Mit dieser Tatsache stimmt auch die zuerst von Tchistovitch (19) gemachte Beobachtung überein, daß die Präzipitine in Alkalien sich auflösen.

Um festzustellen, ob bei den zur Abfüllung benutzten Uhlenhuth-Röhrchen aus gewöhnlichem braunen Glas tatsächlich eine Abgabe von Alkali erfolgt, habe ich in einem Glaskolben aus Jenaer Glas, der schon jahrelang im Laboratorium im Gebrauch war, eine bestimmte Menge destillierten Wassers 6 Std. lang im Dampftopf erhitzt und vor sowie nach dem Kochen die PH-Zahl mit Hilfe der Wasserstoffionenkonzentrations-Bestimmungsmethode nach Michaelis

festgestellt. Nachdem ich mich hierdurch davon überzeugt hatte, daß der zu diesen Untersuchungen verwendete Glaskolben Alkali in nachweisbaren Mengen nicht an das destillierte Wasser abgab, brachte ich 30 gereinigte und sterilisierte Uhlenhuth-Röhrchen, so wie sie zum Abfüllen vorbereitet waren, in den Kolben und erhitzte wiederum 6 Std. im Dampftopf. Die Feststellung der PH-Zahl des destillierten Wassers, die vor dem Kochen 7,2 betragen hatte, ergab nach dem Erhitzen einen Wert von 7,6. Dieser Unterschied ist zwar nicht groß. aber bei der Empfindlichkeit der Methode immerhin beachtlich. Man hat dabei auch zu berücksichtigen, daß bei der Aufbewahrung von Serum andere Lösungsverhältnisse vorliegen als bei destilliertem Wasser. Immerhin sind die obigen Erfahrungen Veranlassung gewesen, die bisher verwendeten Glasröhrchen durch solche einer anderen Glassorte zu ersetzen. Es wurde das in der Serumfabrikation bereits eingeführte Fiolaxglas gewählt, das von den Glasfabriken Schott & Gen. in Jena a. S. hergestellt und in den Handel gebracht wird. Die Fiolaxglasröhrchen sind nach den Angaben der Firma aus bestem Jenaer Glas hergestellt und werden zur Erkennung an der Nahtstelle mit einer dünnen schwarzen Linie versehen. Sie zeichnen sich durch eine erhöhte Widerstandsfähigkeit gegen Hitze und große Härte aus. Zum Abfüllen verwenden wir braungrünlich gefärbte, nach den Angaben von Manteufel und mir (20) mit einem kapillaren Zapfenansatz versehene Röhrchen, in welchen sich die im Laufe der Aufbewahrung öfters entstehenden Bodentrübungen beim Zentrifugieren ansammeln, wodurch eine restlose Ausnutzung des Inhaltes gewährleistet wird, da beim Abpipettieren kein Aufwirbeln des Bodensatzes erfolgen kann[1]). Die Röhrchen werden zunächst durch Waschen und gründliches Spülen von anhaftenden Verunreinigungen befreit, hierauf mit der Oeffnung nach unten in Drahtkörbe gepackt, im Dampftopf der Wirkung strömenden Dampfes mehrere Stunden ausgesetzt und schließlich nach dem Verschluß durch einen Wattestopfen nochmals sterilisiert. Wir haben bisher an ca. 60 Antiseren größere Erfahrungen hinsichtlich der Haltbarkeit zu sammeln Gelegenheit gehabt und seit der Aufbewahrung der präzipitierenden Antisera in Fiolaxröhrchen in dieser Hinsicht bessere Erfolge gesehen. Jedenfalls haben wir bei den bisherigen Nachprüfungen der in solchen Röhrchen konservierter Antisera eine wesentliche Abnahme der Titer noch nicht beobachtet und glauben deshalb die Verwendung des Fiolaxglases zur Konservierung der präzipitierenden Antisera durchaus empfehlen zu können. Auch das Nachtrüben der Antisera bei der Aufbewahrung hat bedeutend nachgelassen. Bei dem in gleicher Weise wie oben angestellten Kochversuch mit Fiolaxröhrchen ergab sich nach dem Erhitzen keine Zunahme der Alkaleszenz des Kochwassers.

Zusammenfassung.

1) Bei 65 verschiedenen präzipitierenden Antiseren ergab die nach 3—4 Jahren vorgenommene Nachprüfung, daß nur 8 Antisera ihren Titer annähernd unverändert gehalten hatten; von den 57 abgeschwächten Antiseren ließen 18 jeglichen Präzipitingehalt vermissen, die übrigen 39 reagierten zum größten Teil nicht weiter als bis zu den Verdünnungen 1:10000 ± — 1:1000.

1) Die Röhrchen sind bei Paul Altmann, Berlin NW 6, Luisenstr. 47, erhältlich.

2) Als besondere Ursache für die herabgesetzte Haltbarkeit präzipitierender Antisera kommt die Alkaliabgabe schlechter Glassorten in Frage.

3) Die Benutzung von Röhrchen aus Fiolaxglas, wie es von der Firma Schott & Gen. in Jena in den Handel gebracht wird, hat sich für die Aufbewahrung präzipitierender Antisera bisher gut bewährt.

Quellenangabe.

1) Uhlenhuth, Dtsch. med. Woch. 1902. S. 680. — 2) Ders., Ztschr. f. Medizinalbeamte. 1903. S. 230. — 3) Biondi, Vierteljahrsschr. f. gerichtl. Med. Bd. 23. 1902. Supplementh. S. 17/18. — 4) Uhlenhuth u. Weidanz, Prakt. Anleitung z. Ausf. d. biol. Eiweißdifferenzierungsverfahrens. Jena 1909. — 5) Dies., Kraus-Levaditi, Bd. 2. S. 816/17. — 6) Corin, Vierteljahrsschr. f. gerichtl. Med. Bd. 23. 1902. S. 66. — 7) Jacobsthal, Arch. f. Hyg. Bd. 48. 1904. S. 220. — 8) v. Eisler, Wien. klin. Woch. 1906. S. 494/95. — 9) Ziemke, Dtsch. med. Woch. 1901. S. 732. — 10) Weidanz, Arb. a. d. Kaiserl. Gesundheitsamt. Bd. 29. 1908. S. 394—402. — 11) Ders., Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Refer., Bd. 42. 1909. Beiheft 1908. S. 168—170. — 12) Friedberger u. Jarre, Ztschr. f. Immunit.-Forsch. Bd. 30. 1920. S. 355/56. — 13) Straßmann, Dtsch. med. Woch. 1922. S. 487/88. — 14) Ders., ebenda, 1924. S.374. — 15) Hinz, Berl. tierärztl. Woch. 1921. S. 148/49. — 16) Ders., ebenda. 1922. S. 419—421. — 17) Uhlenhuth, siehe Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Refer. Bd. 42. 1909. Beih. 1908. S. 174. — 18) Ders., siehe Arb. aus dem Kaiserl. Gesundheitsamt. Bd. 29. 1908. S. 401. — 19) Tchistovitch, Annal. de l'Inst. Pasteur. T. 13. 1899. p. 406. — 20) Manteufel u. Beger, Ztschr. f. Immunit.-Forsch. Bd. 33. 1921. S. 373/74.

Nachdruck verboten.

Ueber Bakterienreinzüchtung.

[Statens Seruminstitut, Kopenhagen (Direktor: Dr. Th. Madsen).]

Von **J. Oerskov**, Dr. med.

Mit 1 Abbildung im Text.

Ich habe schon früher eingehend eine Methode zur Reinzüchtung einzelner Keime beschrieben (Journ. of Bact. Vol. 7. p. 53), will daher auf diesbezügliche Einzelheiten hier nicht eingehen.

Mit dieser Methode ist es ganz leicht, einzelne Bakterien auf der Oberfläche von durchsichtigen Nährmedien mit Trockensystem deutlich zu sehen, wenn man nur für richtige Beleuchtung sorgt. (Ich selbst wende einen starken, matten Osrambulbus an.)

Will man z. B. Bakterien auf der Oberfläche von Bouillonagar untersuchen, so schneidet man viereckige Stücke mit einem ausgeglühten, dann abgekühlten Messer von in Strichen oder diffus inokuliertem Agar aus, hebt sie mit dem Messer ab und legt sie auf einen Objektträger, an welchem der Agar sich augenblicklich fest ansaugt. Objektträger und Agar werden jetzt auf den Objekttisch gelegt, und es ist nun leicht, mit Hilfe des Kreuztisches die ganze Oberfläche zu untersuchen. Die am besten anzuwendende Vergrößerung hängt

von den verschiedenen Aufgaben ab. Viele Bakterien sieht man schon mit schwacher Vergrößerung ganz deutlich.

Bei richtiger Beleuchtung (starkes, gleichmäßiges Licht, stark abgeblendet) sieht man die Bakterien als leicht erkennbare, stark lichtbrechende, scharf konturierte Körper. Kolonien lassen sich natürlich in ganz derselben Weise untersuchen; solange sie noch ganz jung sind, kann man jedes einzelne Element ganz deutlich sehen.

Beschmiert man eine Agarplatte mit einer Mischung von verschiedenen Bakterien (Staphylokokken, Streptokokken, Diphtheriebazillen usw.) und inkubiert einige Stunden, so sieht man die jungen Kolonien viel charakteristischer, als wenn dieselben Kolonien ausgewachsen mikroskopisch betrachtet werden. Man kann sie dann leicht voneinander unterscheiden und sehen, ob die einzelnen Kolonien wirklich nur aus derselben Art bestehen. Hierzu kommt noch, daß junge Kolonien sehr wenig zum Zusammenfließen neigen, wenn die Agarplatte lege artis getrocknet worden ist. Man wird so, trotzdem zwei Bakterien ganz nahe beieinander liegen, lange Zeit deutlich die Grenze zwischen beiden sehen und in den meisten Fällen beurteilen können, ob die ganz junge Kolonie absolut rein ist oder nicht. Mit Hilfe meiner Harpune kann man dann von diesen kleinen Kolonien abimpfen und die verschiedenen Kolonien voneinander scheiden.

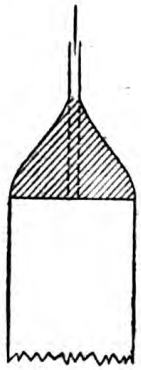


Fig. 1.

Diese Harpune wird aus einem kleinen Stück Platindraht, das teilweise in einem Kapillarrohr festgeschmolzen ist, gemacht und das Glasrohr mit Hilfe von Plastilin an der Spitze eines Objektives befestigt (siehe Figur).

Das Objektiv wird an dem Mikroskop angeschraubt, und die Harpune ist, sobald sie eingestellt ist, gebrauchsfertig. Die Einstellung geschieht in folgender Weise: Erst schneidet man, wie oben angeführt, ein kleines Stück Agar aus einer Agarplatte und legt es auf einen Objektträger. Danach macht man mit einer Schreibfeder ein Tintenfleckchen, das dann unter schwacher Vergrößerung zentriert wird, worauf die Harpunenspitze gleich über dem Fleckchen eingestellt wird, indem man mit den Fingern auf das Plastilin drückt. Jetzt wird die Harpunenspitze in den Agar heruntergeschraubt und mit schwacher Vergrößerung untersucht, an welcher Stelle das Loch, das von der Harpune gemacht wurde, in Relation zu einem im Okular angebrachten quadrierten Okularmikrometer steht. Diese Stelle markiert man auf einem Stück quadrierten Papier. Nachdem die Harpune mit der kleinen Flamme des Mikrobrenners sterilisiert worden ist (die Flamme wird an das Mikroskop geführt), ist sie brauchbar, und jede Kolonie, die an die bestimmte Treffstelle der Harpune placiert wird, wird von ihr getroffen.

Nach dem Harpunieren hebt man die Harpune aus dem Medium, schwingt den Revolver zur Seite und wäscht nun die Harpunenspitze, indem man eine große Oese mit Bouillon vorsichtig ein paar mal über die Spitze führt. Jetzt kann man entweder eine Oberfläche oder ein flüssiges Medium mit der Oese inokulieren. Nach dem Harpunieren muß natürlich die harpunierte Kolonie untersucht werden, um nachzusehen, ob nicht andere Kolonien berührt worden sind. Ist

die Harpune einmal eingestellt, so kann sie mit etwas Vorsicht sehr viele Male ohne neue Einstellung gebraucht werden.

Die Dicke des Platindrahtes hängt davon ab, wie dicht die Kolonien aneinander liegen. Mit sehr dünnem Draht (0,02 mm) kann man z. B. kontinuierlich ein Bakterienfädchen an mehreren Stellen nacheinander treffen. In den meisten Fällen empfiehlt es sich aber, mit dickerem Draht zu arbeiten, weil man mehr Kulturmasse von der Kolonie emporhebt. Dies alles hängt aber, wie gesagt, von der verschiedenen Aufgaben ab.

Man kann sich leicht davon überzeugen, daß es leicht ist, von einem Gemisch von jungen Bakterienkolonien sozusagen mit einem Schlage die verschiedenen Arten in Reinkultur zu erhalten, indem man z. B. eine Agarplatte mit Tonsilbakterien inokuliert und dann die Fläche nach 8—10—12 Std. Inkubation untersucht. Man lernt hierbei auch schnell, die richtige Beleuchtung zu gebrauchen.

In einigen Fällen kann es natürlich von großem Nutzen sein, der Entwicklung von einzelnen Keimen zu folgen; hierzu muß eine komplizierte Technik gebraucht werden. Von vielen Bakterien ist es aber überhaupt nicht möglich oder nur in seltenen Fällen, einzelne Keime reinzuzüchten, weil die betreffenden Keime überhaupt nicht wachsen, wenn sie sich isoliert in flüssigen Medien oder allein auf der Oberfläche eines festen Mediums befinden.

Beschmiert man z. B. eine hämoglobinhaltige Agarplatte mit Pfeiffer-Bazillen, so sieht man, daß die Bazillen nicht an den Stellen wachsen, wo sie isoliert liegen, sondern nur da, wo sie dichter aneinander liegen, und zwar so, daß man sich eine gegenseitige Beeinflussung vorstellen muß, die bewirkt, daß beinahe alle Elemente hier wachsen.

Dasselbe gilt für viele andere Bakterien und ist sehr ausgeprägt der Fall bei einigen anaëroben Bakterien. Je mehr man hier die Bakterien über die Oberfläche verbreitet, desto geringer sind die Chancen für das Wachstum. Bei den Anaërobiern sind die Verhältnisse natürlich noch komplizierter, weil die Bakterien den Aufenthalt in der Luft schlecht aushalten können. Speziell für die anaëroben Bakterien aber muß Sicherheit bezüglich der Reinheit der Kulturen bestehen, was bei den meisten bisher angewandten Methoden nicht der Fall ist. Doch läßt sich diese Frage nicht mit einem Male lösen, sondern erfordert dauernde Aufmerksamkeit, solange mit der betreffenden Kultur gearbeitet wird. Hier leistet die genaue direkte Untersuchung von Oberflächenkolonien ausgezeichnete Hilfe.

Ich möchte bei dieser Gelegenheit die Methode von Mc Intosh und Fild empfehlen, mit der man wirklich beinahe ebenso leicht mit den anaëroben Bakterien arbeiten kann wie mit den aëroben.

Bei den anaëroben Bakterien verfahre ich folgendermaßen: Agarplatten mit oder ohne Zusatz von speziellen Nährstoffen werden mit Bakterien aus jungen Kulturen in Strichen inokuliert und nach 24 bis 48 Std. die Platten untersucht, indem ich passende Stücke mit dem Messer ausschneide und auf den Objektträger bringe. Man findet jetzt sehr leicht und schnell passende Stellen mit entweder kleinen isolierten Kolonien oder kürzeren oder längeren Ausläufern, von denen man leicht mit der vorher eingestellten Harpune abimpfen kann.

Danach werden die Bakterien von der Harpune in Gehirnbouillon oder Leberherzbouillon gebracht, und nach 24 Std. hat man in den meisten Fällen schon eine sichere Reinkultur, die sich leicht wieder untersuchen läßt.

Nachdruck verboten.

Ueber einen Dimethyl-p-phenylendiaminnährboden zur Züchtung anaërober Bakterien und über das Verhalten einiger Aëroben auf diesem Nährboden.

1. Mitteilung.

[Aus der II. Med. Univ.-Klinik in Wien
(Vorstand: Prof. Dr. N. Ortner).]

Von **Nikolaus Kovács.**

Die Empfindlichkeit der anaëroben Bakterien gegen freien Sauerstoff erfordert besondere Maßnahmen zur Ausschaltung seiner wachstumhemmenden bzw. wachtumhindernden Wirkung.

Eine der häufigsten Methoden ist die Verhinderung des Sauerstoffeinflusses auf chemischem Wege. Zur chemischen Reduktion im Nährboden wird derzeit fast ausnahmslos Traubenzucker benützt. Wohl gibt es eine ganze Reihe anderer organischer und anorganischer Reduktionsmittel, die zur Züchtung von Anaëroben verwendet wurden, doch soll nach Heim (6) eine praktische Bedeutung von allen diesen nur dem indigschwefelsauren und ameisensauren Natrium (7) zukommen. Von anderen Reduktionsmitteln wurden von Arloing, Cornevin, Thomas (1) und Hata (5) Eisensulfat, von Trenkmann (12) Natriumsulfid, von Hammerl (4) und Rivas (9) Ammoniumsulfhydrat, von Wrzosek (15) und Hata (5) Natriumsulfit, und von Liefmann (8) Ferroammoniumsulfat angegeben.

Nach Ehrlichs (3) Untersuchungen tritt nach Mischung von Organextrakten und Organbrei mit alkalischem α-Naphtol und Dimethyl-p-phenylendiamin unter Sauerstoffaufnahme eine Blaufärbung des Gemenges durch Entstehung von Indophenolblau, als Zeichen des stattgefundenen Oxydationsprozesses, auf. Diese Probe wurde von Winkler (14) zum Nachweis von Oxydase in den Leukozytengranula angegeben, und von Schultze (10) als eine wichtige Methode bei der Differentialdiagnose der Leukämien verwendet. Es war die Vorstellung naheliegend, daß durch die leichte Oxydierbarkeit des Dimethyl-p-phenylendiamins (Dm.) dieses im Nährboden eine Reduktionswirkung ausüben könnte.

Im Laufe der Untersuchungen zeigte sich, daß wässerige Lösungen von Dm., mit Bouillon oder Agar in Eprouvetten vermischt, eine deutliche Verdunkelung in ihrem oberen, von dem Luftsauerstoff betroffenen Anteil aufweisen. Reduktionsversuche mit Methylenblau sind durch Verdunkelung der oxydierten Dm.-Lösung nicht gelungen, wohl aber zeigte sich deutliche Reduktion mit der Fehlingschen Probe. Weitere Versuche haben bezweckt, die Reduktionswirkung des Dm. zur Züchtung der Anaëroben auszunützen. Es wurden mit verschiedenen Dm.-Konzentrationen in 2proz. Agarnährboden anaërobe Kulturen angelegt, wobei sich zeigte, daß dasselbe das Wachstum außerordentlich fördert. Die Untersuchung verlief folgendermaßen: Von einer 48 Std. alten Leberbouillonkultur der zu untersuchenden Stämme wurden Stich- und Schüttelkulturen in hoher Schicht angelegt und nach 24- und 48-stünd. Bebrütung bei 37° die Resultate abgelesen. Das Ergebnis dieser Untersuchungen ist aus der beigefügten Tabelle zu ersehen (Tab. I).

Tabelle I.
(B. phlegmonis emphysematosae, Stamm Nr. 45).

Agar mit ‰ Dm.	0,25	0,1	0,05	0,025	—	2-proz. Traubenagar
nach 24 Std.	+	+	+	⊕	○	+
nach 48 Std.	#	#	#	+	○	#

bedeutet gutes, + mäßiges, ⊕ ganz spärliches, ○ ausgebliebenes Wachstum.

Die gleichen Resultate wie der Gasbrandbazillus ergaben die verschiedensten Anaëroben, so der B. sarcophysematos, B. oedemat. malign., B. putrific. Bienstock, B. tetani, B. botulinus und B. amylobacter. In der Regel wurden mehrere Stämme derselben Art zu dem Versuch herangezogen.

Es zeigt sich, daß unvergleichlich kleinere Mengen des Reduktionsmittels genügen, die gleiche Wachstumsintensität zustande zu bringen, als mit dem üblichen Traubenzucker, im Gegensatz zu anderen Reduktionsmitteln. Bei Traubenzuckernährböden wird eine 1—3proz. Konzentration, bei indigschwefelsaurem Natrium eine 0,1proz., bei ameisensaurem Natrium eine 0,3—0,5proz. verwendet. Mit 0,0005 g Dm. auf 10 ccm Agar ist nun ein dem Traubenzuckeragar entsprechender Effekt zu erreichen.

Höhere Konzentrationen als 0,25 ‰ sind zu Stichkulturen nicht verwendbar, da mit der Zeit durch die Oxydation des Dm. sich der ganze Nährboden dunkel färbt. Wohl tritt bei einer Verdünnung von 0,1 ‰ auch eine graublaue Verdunkelung der oberen Schicht auf, welche Farbenveränderung aber nur auf die oberste Zone beschränkt bleibt.

Als optimale Konzentration ergab sich für die verschiedenen Anaërobenstämme eine solche von 0,05 pro mille, entsprechend 0,0005 g Dm. auf 10 ccm Agar. Der 0,1 ‰ Dm.-Nährboden liefert zwar ungefähr dieselben Resultate wie der oben erwähnte, da aber einerseits derselbe Effekt mit weniger Reduktionsmittel erreichbar ist, andererseits wieder eine Verdunkelung der obersten Zone des Nährbodens schon ziemlich auffallend wird, möchte ich einen 0,05 ‰ Dm.-Nährboden empfehlen.

Dieser Nährboden hat die Farbe des gewöhnlichen Agarnährbodens. In hoher Schicht abgefüllt, nimmt er nach längerem Stehen — mehrere Wochen — in der oberen, dem Sauerstoffe zugänglichen Zone eine leichte, eben bemerkbare, bräunlichgelbe Färbung an. Um die Oxydation des Nährbodens auszuschalten, soll man ihn in hochaufgefüllten Eprouvetten, entsprechend der hohen Schicht, oder in Kolben mit engem Hals und bis zu diesem aufgefüllt, vorrätig halten. Der oxydierte Nährboden büßt, gemäß unserer Vorstellung über den sich abspielenden chemischen Prozeß, seine wachstumfördernde Eigenschaft teilweise ein.

Das Dm. ($C_6H_4 \cdot N[CH_3]_2NH_2$) bildet graublaue Kristalle, die bei Luftzutritt sehr leicht oxydierbar sind. Es ist am zweckmäßigsten, sie in kleinen braunen, abgeschmolzenen Phiolen von Merck unter der Bezeichnung „0,5 g Dimethyl-p-phenylendiamin-Base zur Oxydasereaktion nach Prof. W. H. Schultze“ zu beziehen. Von diesem wird eine 1proz. wässerige Lösung bereitet und bei der Nährbodenherstellung

0,5 ccm auf 100 ccm Agarnährboden gegeben. Diese Stammlösung ist im Gegensatz zu dem fertigen Nährboden, soweit dieser nicht in hoher Schicht gefüllt ist, in dunklem, gut verschlossenem Gefäß mehrere Wochen bis Monate haltbar. Ich habe eine über 2 Jahre alte Lösung vorrätig, welche, zur Nährbodenzubereitung verwendet, noch immer eine deutlich reduzierende Wirkung ausübt. Nichtsdestoweniger ist es ratsam, zu alte, schon Monate lang stehende, Lösungen nicht zu benützen.

Alle zur Züchtung dienenden chemischen Reduktionsmittel müssen zweierlei Zwecken entsprechen. 1) müssen sie stark reduzierend wirken, 2) aber dürfen sie das Wachstum der Anaëroben nicht beeinträchtigen. Aus großen Reihenversuchen von Kitasato und Weyl (7) wissen wir, daß die meisten Reduktionsmittel diese doppelte Eigenschaft nicht besitzen, wenigstens entspricht ihr hypothetisches Reduktionsoptimum, das für die Bakterien erforderlich ist, nicht der Konzentration, welche das Bakteriumwachstum noch unbeeinflußt läßt. In dem Dm.-Nährboden ist aber durch die minimalen Mengen des Reduktionsmittels beiden Bedingungen Rechnung getragen.

Der Dm.-Nährboden hat gegenüber dem Traubenzuckernährboden den Vorteil, daß er nicht gesprengt wird. Die Sprengung bringt eine unangenehme Erschwerung der Arbeiten mit Anaëroben mit sich. Es wird besonders die Reinzüchtung dann schwierig, „wenn durch Gasbildung der Nährbodenzylinder zerrissen ist und infolge davon makroskopisch oft nicht bemerkbare Mengen von bazillenhaltigem Preßwasser die Innenwand des Kulturgefäßes und die Oberflächen der Zylinderbruchstücke überziehen“ [Zeißler (16)]. Dies kommt hauptsächlich bei dem B. amylobacter vor, bei welchem in den meisten Fällen auch in Stichkulturen schon nach 24 Std. der Traubenzuckernährboden ganz zersprengt ist, was besonders bei Mischkulturen, soweit man zur Reinzüchtung noch auf Schüttelkulturen angewiesen ist, sehr hinderlich ist. Dies ist der Fall bei Gewinnung von Anaëroben aus dem Blut von Lebenden und Leichen. Man bereitet nach Zeißler (16) die Traubenzuckerblutagarplatten mit dem zu untersuchenden Blut, so daß eine Traubenzuckerblutagarschüttelkultur in Plattenform entsteht. Man kann auch bei der Reinzüchtung von Stuhlanaëroben vorläufig mit Plattenkulturen allein nicht auskommen. Ein anderer Nachteil des Traubenzuckers ist der, daß er sich unter dem Einflusse höherer Temperaturen verändert. Weiterhin wird aus ihm durch Einfluß vieler Anaëroben Säure gebildet, ein Umstand, welcher seine nachteilige Wirkung besonders in flüssigen Nährböden — hierüber behalte ich mir vor, bei nächster Gelegenheit zu berichten — durch Abnahme der Virulenz und Verhinderung des Aussporens fühlbar macht. Aus den Arbeiten von Ushimura (13) und Zeißler (16) ist ferner bekannt, daß der Traubenzuckeragar für die Rauschbrandbazillen keinen gut geeigneten Nährboden bildet.

Dem Dm.-Agar fehlen also alle ungünstigen Eigenschaften des Traubenzuckeragars, er kann daher mit Vorteil als vollwertiger Ersatz an dessen Stelle treten.

Parallel den Untersuchungen mit anaëroben Bakterien habe ich Versuche über den Einfluß des Dm. auf aërobe Bakterien angestellt. In der Literatur fand ich in dieser Richtung negative Ergebnisse. Schultze (11) konnte auf dem „Oxydaseagar“, welcher

aus α-Naphtol und Dm. besteht, kein Wachstum finden. Der Grund hierfür ist vorwiegend in der wachstumhemmenden Wirkung des Dm. zu suchen, nachdem die späteren Versuche von Brand (2) mit reinem α-Naphtolnährboden eine geringgradige Hemmung ergeben hatten. Gleichzeitig berichtet er über Dm. nur, daß „die Bakterien sich nicht daran zu gewöhnen vermochten". Auf Grund der Ergebnisse der Anaërobenzüchtung glaubte ich es auch hier mit ganz minimalen Mengen des Dm. versuchen zu müssen.

Um gleiche Bakterienmengen zu übertragen, wurden Bouillonröhrchen mit den zu untersuchenden Stämmen beimpft und nach 48stünd. Bebrütung auf den in verschiedenen Konzentrationen in Platten gegossenen Dm.-Agar ausgestrichen. Die zur Untersuchung dienenden Platten waren vor der Beimpfung 12 Std. bei 37° getrocknet und nachher 48 Std. lang bebrütet. Die Ergebnisse der Untersuchung sind aus Tabelle II zu ersehen.

Tabelle II.

Agar mit ‰ Dm	0,5	0,25	0,1	0,05	0,025	0,01
Streptococcus pyogenes	○	⊕	#	#	#	#
Staphylococcus pyogenes	○	○	⊕	+	#	#
B. coli commun.	○	+	#	#	#	#
B. typhi	○	○	+	#	#	#
B. paratyphi A	○	○	+	#	#	#
B. paratyphi B	○	○	+	#	#	#
B. dysent. Shiga-Kruse	○	○	○	⊕	+	#
B. dysent. Flexner	○	○	+	#	#	#
B. dysent. Y	○	○	+	#	#	#
B. dysent. Strong	○	○	+	#	#	#

bedeutet normales, + mäßiges, ⊕ ganz spärliches, ○ ausgebliebenes Wachstum.

Die Tabelle zeigt, daß das Dm. auf verschiedene Bakterien eine verschiedengradige Hemmung ausübt, welche bei jeder der Arten an mehreren Stämmen geprüft wurde. Von den bisher untersuchten Bakterien ist die Differenz zwischen der Hemmung der Streptokokken und Staphylokokken einerseits, zwischen der Dysenterie- und Pseudodysenteriegruppe andererseits hervorzuheben. Im allgemeinen sind die Streptokokken empfindlicher als die Staphylokokken, welche Eigenschaft auch gegenüber den meisten chemischen wachstumhemmenden Mitteln zu Recht besteht. Die Wachstumshemmung des Dm. zeigt umgekehrte Verhältnisse. Auf 0,15‰ Nährboden wachsen die meisten Staphylokokkenstämme überhaupt nicht, und auf 0,20‰ Nährboden zeigte sich bei keinem der untersuchten Stämme ein Wachstum. Demgegenüber ist bei den Streptokokken auf 0,25‰ Nährboden noch ein, wenn auch stark gehemmtes, Wachstum zu beachten, welches bei einzelnen Stämmen bereits bei 0,15‰ ziemlich stark ausgeprägt ist.

Der B. dysenteriae Shiga-Kruse zeigt schon bei 0,05‰ deutliches Zurückbleiben im Wachstum, und bei 0,1‰ wuchs keiner der untersuchten Stämme. Die Pseudodysenteriebazillen zeigen bei dieser Konzentration nur ganz geringgradige Hemmung.

Die Tabelle bezieht sich nur auf Bouillonkulturen als Ausgangsmaterial, da von Agarkulturen weit größere Mengen der Bakterien übertragen werden, ein Umstand, welcher ganz andere Wachstums-

verhältnisse hervorruft. Die Resultate dieser Untersuchungen kann ich wegen Mangel an gebotenem Raum nicht anführen.

Die Hemmung des Dm. bezieht sich vorwiegend auf das „Aufgehen" der einzelnen Bakterien, da die einmal aufgegangenen Keime, wohl die resistentesten, nach anfänglich langsamem Wachstum in ihrem Weiterwachsen nur mehr wenig gehemmt werden.

Ein Teil der Bakterien wächst in höheren Nährkonzentrationen vom 4.—5. Tage an durch Farbstoffspeicherung in hell-lila Kolonien.

Versuche, die Bakterien an den Nährboden zu gewöhnen, sind mir, ähnlich wie bei Brand (2), nicht gelungen.

Die Hemmung des Dm. ist von dem Oxydationsgrad des Nährbodens sehr abhängig. Dies läßt sich mit folgendem Versuche zeigen: Wenn man Stich- oder Schüttelkulturen in verschieden konzentrierten Dm.-Agar anlegt, so ergibt sich, daß bei Konzentrationen, wo an der Oberfläche des Nährbodens eine totale oder eine partielle Hemmung besteht, in der Tiefe des Nährbodens, so in dem Stichkanal, noch ein deutliches Wachstum vorhanden ist. Das bezieht sich selbstverständlich nur auf fakultative Anaëroben, so z. B. Staphylokokken oder B. coli. Versuche, eine Differenz im Wachstum an alten (oxydierten) und ganz frischen Platten zu erzielen, haben kein sicheres Ergebnis geliefert, was durch die Oxydation der frischen Platten während der Bebrütung zu erklären ist.

Im flüssigen Nährboden wachsen die Bakterien infolge der stärkeren Hemmung des oxydierten Dm. in den Konzentrationen, deren hemmende Wirkung genügend ausgesprochen ist, die aber von der in festem Nährboden etwas abweicht, noch in der Tiefe der Eprouvetten, und erst bei höheren Konzentrationen tritt ein totales Ausbleiben des Wachstums auf.

Die verschiedengradige Hemmung des Dm. auf Strepto- und Staphylokokken hat eine praktische Bedeutung bei der Reinzüchtung der Streptokokken, da diese von den Staphylokokken leicht überwuchert werden können. Ebenso läßt sich die Resistenzverschiedenheit in der Dysenteriegruppe gegenüber dem Dm. differentialdiagnostisch ausnützen.

Zusammenfassung: 1) Mit einem 0,05 $^0/_{00}$ Dimethyl-p-phenylendiamin-Agarnährboden erzielen wir dasselbe Züchtungsresultat bei anaëroben Bakterien wie mit Traubenzuckeragar, ohne dessen nachteilige Wirkung. — 2) Das Demethyl-p-phenylendiamin übt auf die verschiedenen aëroben Bakterien eine verschiedenartige Hemmung aus, deren Grad zu ihrer Differenzierung benützt werden kann.

Literatur.

1) Arloing, Cornevin et Thomas, Le charbon symptomatique du boeuf. Paris 1887; zit. n. Zeißler in Kraus-Uhlenhuth, Handb. d. mikrob. Technik. — 2) Brand, Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 72. S. 1. — 3) Ehrlich, Das Sauerstoffbedürfnis des Organismus. Berlin 1884. — 4) Hammerl, Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 30. S. 685. — 5) Hata, ebenda. Orig. Bd. 46. S. 539. — 6) Heim, Lehrb. d. Bakteriol. Stuttgart 1918. — 7) Kitasato u. Weyl, Zeitschr. f. Hyg. Bd. 8. S. 41. — 8) Liefmann, Münch. med. Wochenschr. 1907. S. 823; Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 46. S. 377. — 9) Rivas,

ebenda. Abt. I. Orig. Bd. 32. S. 831. — 10) Schultze, Münch. med. Wochenschr. 1909. S. 167; 1910. S. 2171; Zieglers Beitr. 1909. S. 45. — 11) Ders., Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 56. S. 544. — 12) Trenkmann, ebenda. Abt. I. Bd. 23. S. 1038. — 13) Ushimura, Schweiz. Arch. f. Tierheilk. 1921; zit. n. Zeißler in Kraus-Uhlenhuth, Handb. d. mikrob. Technik. — 14) Winkler, Fol. haematol. 1907. p. 323. — 15) Wrzosek, Centralbl. f. Bakt. Abt. I, Orig. Bd. 43. S. 17; Bd. 44. S. 607. — 16) Zeißler, Die Technik der Anaërobenzüchtung. (Kraus-Uhlenhuth, Handb. d. mikrob. Technik. Berlin-Wien 1923. S. 961.)

Aufnahmebedingungen
für das Centralblatt für Bakteriologie, Parasitenkunde und Infektionskrankheiten.

Die Manuskripte müssen **druckfertig** eingesandt werden. Notwendig werdende Umarbeitungen und Korrekturen können auf Wunsch durch die Redaktion gegen entsprechende Vergütung besorgt werden.

Arbeiten, welche den Umfang von $2^1/_2$ bis 3 Druckbogen überschreiten, müssen vorläufig von der Aufnahme ausgeschlossen werden, falls die Verff. die Herstellungskosten für den obige Bogenzahl übersteigenden Text nicht zu tragen bereit sind. Auch können **Tafeln, Textfiguren, Kurven, Tabellen** usw. nur in beschränkter Anzahl beigegeben werden. Weitergehende Wünsche können nur Berücksichtigung finden, wenn die über das vorgesehene Maß hinausgehenden Herstellungskosten von den Verfassern getragen werden. Für **zurückverlangte Manuskripte** ist das zur Rücksendung nötige Porto an die Redaktion vorher einzusenden.

Inhalt.

Barikin, W., u. **Zacharoff, A.,** Die Epidemiologie der gegenwärtigen Cholera in Rußland, S. 201.

Beger, H., Beobachtungen über herabgesetzte Haltbarkeit präzipitierender Antisera, S. 308.

Gersbach, Alfons, Ueber kleine Bazillen und kleinste Kolonien aus Wasser, Bacillus balnearius, S. 194.

Kabelík, J., u. **Rosenzweig, Walter,** Versuche zur Unterscheidung der Bakterien aus der Typhus-Coli-Gruppe durch Färbung, S. 197.

Kovács, Nicolaus, Ueber einen Dimethyl-p-phenylendiamnährboden zur Züchtung anaërober Bakterien und über das Verhalten einiger Aëroben auf diesem Nährboden. I. Mitteilung, S. 315.

Krantz, Walther, Ueber feste und flüssige Nährböden zur Kultivierung der Spirochaeta pallida, S. 216.

Kritschewsky, J. L., Zur Auffassung des anaphylaktischen Shocks als eines physikalisch-chemischen Phänomens. Begründung der Metaballodispersttheorie, S. 277.

Oerskov, J., Ueber Bakterienreinzüchtung. Mit 1 Abbildung im Text, S. 312.

Pesch, Karl L., Ueber Natur und Bildung der Diphtheriepolkörnchen, S. 208.

Stapp, C., Weitere Beiträge zur Kenntnis der Bakterienfermente. Mit 2 Abbildungen im Text, S. 161.

Toyoda, Hideso, u. **Yung-nen Yang,** Zweite Mitteilung über die Bakterizidiefestigkeit des Tuberkelbazillus, S. 271.

Zandt, Ferdinand, Fischparasiten des Bodensees. Mit 33 Abbildungen im Text, S. 225.

Frommannsche Buchdruckerei (Hermann Pohle) in Jena.

Centralbl. f. Bakt. etc. I. Abt. Originale. Bd. 92. Heft 5/6.

Ausgegeben am 22. August 1924.

Nachdruck verboten.

Bakteriologische und serologische Untersuchungen bei einer neuen Art von anaëroben Fäulnisbazillen.

Von Dr. **Y. Tomioka** aus Tokio.

Der im folgenden zu beschreibende anaërobe Bazillus wurde in Reinkultur aus einer bombierten Sardinenkonserve herausgezüchtet, die als Ursache einer Nahrungsmittelvergiftung angesehen wurde, starken Gestank zeigte und erweicht war, während Gasblasen in dem Inhalt nicht beobachtet wurden. Dieser Bazillus ist eine neue Art von anaëroben Fäulnisbakterien, und es scheint nach meiner Untersuchung, daß er keine Beziehung zu der Vergiftung hatte. Aber die Befunde, die sich bei der Untersuchung dieses Bazillus herausgestellt haben, erweitern die Kenntnisse über Morphologie, Biologie und kulturelles Verhalten der Anaërobier im allgemeinen und der Fäulnisbazillen im besonderen.

Morphologie.

Die Bazillen sind mittelgroße Stäbchen und lebhaft beweglich. Sie liegen meistens einzeln, bilden jedoch häufig auch Ketten, oft zu zweien, selten zu mehreren oder zu vielen. Bisweilen bildet der Bazillus kettenlose, lange Pseudofäden, an denen man manchmal schlängelnde Bewegung sehen kann. Wenn die Kultur lange im Frigo-Apparat gehalten wird, bilden sich infolge Schädigung des Längenwachstums kokkenähnliche Gebilde. Dieser Bazillus ist grampositiv bis gramlabil. Er macht Blähformen und läßt weder Granulose (v. Hibler) noch Kapseln erkennen. Die Geißeln sind peritrich (Geißelzahl 7—24). Die „subterminalen" (selten endständigen, noch seltener zentralen) rundlichen bis ovalen Sporen treiben den Bazillenleib auf.

Kulturelles Verhalten[1]).

Im flüssigen Nährboden wächst der Bazillus in diffuser Trübung und bildet schon am 2. Tage eine geringe Menge von lehmartigem Bodensatz. In Milchnährboden und im Barsiekowschen Nährboden bildet er nach 24stünd. Bebrütung einen feinflockigen Kaseinniederschlag, den er dann peptonisiert. Im flüssigen Serumnährboden koaguliert er das Serum nach 72 Std. und verflüssigt es später. In 10 Tagen nehmen die Koagula $^1/_3$ des ganzen Volums des Nährbodens ein. In koaguliertem Serumnährboden (Zubereitung nach Med. Res. Committ. 1917) bildet er in 24 Std. geringe Gasblasen und fängt an zu verflüssigen. Am 8. Tage bleiben dann nur wenig schmutzigblaue Koagula zurück. Stichkulturen in gewöhnlichem Agar oder im Traubenzuckeragar zeigen in 2 Tagen ein schwaches fadenartiges Wachstum, wobei der Faden aber keinen wollhaarigen, sondern mehr flügelartigen Besatz hat. In Schüttelkulturen derselben Medien bilden sich in 24 Std. zerschlissene, knochenkörperchen- oder baumwollenballähnliche, fädig strukturierte Kolonien. Auf Agarplatten bilden sich in 4 Tagen, auf Zeißler-

1) Die Reaktion des Nährbodens war gewöhnlich phenolphthalein-neutral. Die flüssigen Nährböden, wie Peptonwasser, Barsiekowscher Nährboden, flüssiges Serum wurden mit Vaseline überschichtet. Die Brüttemperatur 37° C, bei Gelatinenährboden 17—25° C.

schen Traubenzuckerblutagarplatten in 24 Std. runde, platte, durchsichtige, meningokokkenähnliche Kolonien. Dabei tritt Hämolyse ein. In gewöhnlichen Gelatine- oder Traubenzuckergelatinenährböden bildet er in 3 Tagen zerschlissene Kolonien und verflüssigt den Nährboden im Laufe des Tages. In manchen Fällen sieht man in Gelatine nadelförmige Kolonien in der ganzen Schicht. Die Ursache dafür liegt wahrscheinlich darin, daß der Nährboden weich, und die Lebensenergie des Bazillus stark ist. Gehirnnährboden wird erweicht und schwärzt sich schon am 1. Tage. In Nährböden, denen Pflanzengewebe[1]) (14 Arten) oder Tiergewebe (Tarozzi-Wrzosekscher Nährboden, Knorr-Heimscher Nährboden, 13 Arten von Fischnährböden[2]) zugesetzt ist, wächst er unter den Erscheinungen der Fäulnis. Nur in Früchtenährböden, wie Birnen-, Apfelnährboden, wird kein Wachstum beobachtet, auch wenn sie gut neutralisiert sind. Von den oben erwähnten verschiedenen Nährböden erwiesen sich Knorr-Heimsche Leberleberbouillon und Pfeilkrautknollen, Sardinen, Bonitofisch oder Meerbrasse enthaltende Nährböden für das Wachstum am günstigsten.

Wachstumsbedingungen.

1) Nährstoffe. Eiweiß ist zum Wachstum dieses Bazillus absolut notwendig. Pepton, Albumose, tierisches Eiweiß und sogar Pflanzeneiweiß wird von ihm gut ausgenutzt. Kohlehydrat bildet für ihn nur ein Hilfsnahrungsmittel, Kochsalz hemmt bei 2proz. Zusatz schon sein Wachstum, dagegen kann dieser Bazillus auch ohne Kochsalzzusatz zum Nährboden gut gedeihen. Fett wird von ihm nicht benötigt. Die beste Konzentration der verschiedenen Bestandteile des gewöhnlichen Nährbodens ist: 2—10 Proz. Fleischextrakt (Yajirushifleischextrakt), 2—5 Proz. Pepton (Witte- oder Teruuchi-Pepton), 0—1,0 Proz. Kochsalz und 0,5—2 Proz. Traubenzucker.

2) Die Reaktion des Nährbodens und die Brüttemperatur. Die optimale Reaktion des Traubenzuckerpeptons für das Wachstum ist 0,5 Proz. Normalalkali bis neutrale Reaktion (mit Phenolphthalein), aber er kann sich in Traubenzuckerbouillon wegen der Steigerung des Nährwertes und der Reduktionskraft des Nährbodens in noch saurer Reaktion entwickeln. Die untere Grenze der Wachstumstemperatur ist 16—19° C, die obere 50° C und die optimale 30—39° C.

3) Sauerstoffspannung. Dieser Bazillus wächst nur unter mäßig anaëroben Bedingungen und nicht auf aërober Plattenkultur oder in flüssigen Nährböden, die man lange nach der Sterilisation bei Zimmertemperatur gehalten hat. Wenn man aber den Sauerstoff, beispielsweise mit Hilfe der Lentzschen Plattenkultur, mit alkalisiertem Pyrogallol völlig absorbiert, so wächst er auch nicht. Aus diesem Grunde glaube ich, daß dieser Bazillus Mikroaërophilie (Beijerinck) zeigt und zu seinem Wachstum etwas Sauerstoff, wenn auch in geringer Menge, braucht, wie Gunning, Beijerinck Matsushita sowie Fermi und Bassu bei anderen Anaërobiern schon bemerkt haben. Ja, der Bazillus hat sogar eine ziemlich starke Sauerstoffspannung nötig. Das ist daraus ersichtlich, daß er in der oberen Schicht der Gelatine- oder Agarschüttelkulturen eine Atmungsfigur (Beijerinck) und im oberen Teil des Agarstichkanals eine kolbenförmige Anschwellung bildet. Außerdem wächst er manchmal auch in gewöhnlichem Peptonwasser, gewöhnlicher Bouillon, Traubenzuckerpepton oder Traubenzuckerbouillon, aus der die Luft durch Kochen nur unvollkommen verjagt ist, ohne anaërobe Vorsichtsmaßregeln. Scholtz hat für solche Fälle die Erklärung gegeben, daß die Kultur durch ihre Reduktionsfähigkeit die Luft aus ihrer Umgebung entnimmt, indem sie in der Reagenzglaskuppe, d. h. an der luftärmsten Stelle zusagende Wachstumsbedingungen findet. Jedenfalls ist es in unserem Falle sicher, daß die Bedeutung des anaëroben Zustandes nicht so groß ist. Aber man muß doch bei der Kultivierung mit irgendeiner der unten zu erwähnenden Methoden eine gewisse Menge Sauerstoff aus dem Nährboden entfernen. Die Mehoden der Sauertstoffverdrängung sind folgende:

(1) Durch Kochen oder Zusatz von Reduktionsmitteln. Aus Peptonwasser (Gates u. Olitsky, Oberstadt, F. Müller, Verfasser) und Bouillonnährböden (Th. Smith, Gates u. Olitsky, Oberstadt, F. Müller, Verfasser) den Sauerstoff durch Kochen allein auszutreiben, ist bekanntlich nicht leicht. So

1) 3—4 Stücke von etwa 1 ccm Pflanzengewebe werden in ein Reagenzglas getan und Leitungswasser wird bis zur Höhe von 8 cm zugegeben. Der so hergestellte Nährboden wird bei 120° C 15 Min. sterilisiert.

2) Zu 1 Gewichtsteil Fischgewebe kommen 2 Gewichtsteile Wasser. Dieser Nährboden wird gleichfalls bei 120° C 15 Min. sterilisiert.

ist es empfehlenswert, zu diesen Nährböden Reduktionsmittel wie Traubenzucker (Pasteur, Liborius usw.), Na_2S (Trenkmann, Manteufel), Na_2SO_3 (Hata), Eisen (Wrzosek, Hata) usw. oder organisches Gewebe (im frischen Zustande, wie Th. Smith, Kitt, Tarozzi, v. Hibler usw., oder in Autoklav sterilisiert, wie Wrzosek, Harras, Würcker, Heim, v. Hibler usw.) hinzuzusetzen.

Ist die Traubenzuckerbouillon etwas alkalisch, so wächst der Bazillus besonders gut und kann ohne Vaselineüberschichtung ganz üppig gedeihen, weil die Reduktionskraft des Traubenzuckers verstärkt wird. Ich brauche deshalb diese Traubenzuckerbouillonkultur immer dann, wenn ich Antigen oder große Mengen von Kultur haben will. Zum Zuckerspaltungsprozeß benütze ich Peptonwasser mit Na_2S und mit Vaselineüberschichtung (Manteufel). Zwecks Beförderung des Wachstums oder der Lebensenergie des Bazillus benutze ich aber Knorr-Heimsche Leberleberbouillon, Leberbouillon (Smith, Kitt, Tarozzi) oder Hirnbreinährboden (v. Hibler). Für die Plattenkultur ist der Traubenzuckerblutagar (Zeißler) oder Serumagar am bequemsten.

Eindringen von Luft nach der Sauerstoffvertreibung bei Nährlösungen sind folgende

(2) Schutz gegen Eindringen des Sauerstoffs. Als Schutzmethoden gegen das zu erwähnen:

a) die Verwendung von hochgeschichteten Nährböden;

b) die Erhöhung der Viskosität der Nährlösung durch Zusatz von Traubenzucker, Kleister, Knollenarten, Tier- oder Pflanzengewebe, Serum, Gelatine oder Agar usw.;

c) das Zusetzen von festen Körpern zu den flüssigen Nährböden, wie organischem Gewebe, Agar, Baumwolle, Asbest, Metallstückchen usw.;

d) das Abschließen des Nährbodens mit luftdichtem Material.

Um den Nährboden abzuschließen, gibt es verschiedene Mittel. Darunter leistet Vaseline (Loewe u. Strauß, Barbar, Kahn, Fildes) ausgezeichnete Dienste. Das bis jetzt gebräuchliche flüssige Paraffin (Legros, Noguchi) erfüllt nach Fildes, Gates u. Olitsky, Manteufel und Verf. seinen Zweck nicht gut. Festes Paraffin (Park, Weinzirl, Thompson) schrumpft bei der Kälte stark zusammen und bildet dadurch luftdurchlässige Risse.

(3) Die Reduktionskraft dieses Bazillus ist wie die anderer Anaërobier sehr groß. Diese Fähigkeit übertrifft weit die der 2proz. Traubenzuckerbouillon. Sie steht in enger Beziehung zu den Bazillenleibern (läßt sich durch Zentrifugieren oder Filtrieren der Traubenzuckerbouillonkultur erweisen) und ist abhängig von der Lebenstätigkeit der Bazillen, da alte Kultur oder durch Hitze bzw. Chemikalien abgetötete Bazillen die Reduktionsfähigkeit verlieren. Wo die Reduktion bei unserem Bazillus stattfindet, ist ebenso wie bei den anderen Bakterien unklar. Daß dieser Bazillus vermöge dieser Kraft in relativ starker Sauerstoffspannung wachsen kann, wurde schon erwähnt. Bei der Impfung ist es aber ratsam, daß man frisches oder zusammenhängendes Material in größerer Menge in die Tiefe des Nährbodens einimpft.

Biologie.

1) Gestankbildung. Dieser Bazillus bildet bei Zersetzung des Eiweißes ein stark stinkendes Gas, das in mäßiger Menge einen etwas süßlichen, bei größerer Menge einen unerträglichen Fäulnisgeruch verbreitet. Ist man lange diesem starken Geruch ausgesetzt, so bekommt man Kopfschmerz. Der Gestank ist am stärksten bei Wachstum im eiweißreichen Nährboden und bei Kulturen von 2 bis mehrere Tage Alter.

2) Gasbildung. Der gewöhnliche Gelatine- oder Agarnährboden hat harte Konsistenz, und die darin stattfindende Gasbildung ist gering, so daß man bei der Kultur auf diesen Nährböden keine Gasbildung feststellen kann. Aber in anderen Nährböden bildet er mehr oder weniger Gas. Besonders wenn der Nährboden Glukose, Glyzerin oder andere Zuckerarten oder tierisches Gewebe enthält, ist die Gasbildung sehr stark. Aber in Peptonwasser oder zuckerfreier Bouillon kann sich durch Zersetzung des Eiweißes auch Gas bilden und unter der überschichteten Vaseline sammeln.

3) Indolbildung. In Kulturen von 1—3 Wochen Alter in 1—10proz. Peptonwasser (Teruuchi-Pepton) oder in anderem zuckerfreien Nährboden kann man mit Ehrlichs Reaktion kein Indol nachweisen.

4) Zuckerspaltung. Seit den ersten bezüglichen Arbeiten von Th. Smith wird der Zuckerspaltungsversuch auch bei Anaërobiern zur Untersuchung herangezogen. Leider waren die bisherigen Resultate nicht recht befriedigend. In neuerer Zeit haben Henry, Kahn, Hall, Kendall, Bienstock, Gaehtgens, Olsen usw. auch diesen Versuch mit ziemlich verschiedenen Resultaten angewendet. Es bedeutet aber einen Fortschritt, daß Kendall und Hall anstatt Coli-Bazillen den B. Welchii verwendeten, um das Nährmedium vom Zucker frei zu machen. Ich habe 1proz. mit Na_2S versetztes Peptonwasser, das mit Vaseline überschichtet war, zur Zuckerprobe benutzt und nach 3tägiger Bebrütung die Gas- und die Säurebildung (mit Lackmus oder Phenolphthalein) geprüft. Bekanntlich kann man bei Anaërobiern aus einer geringen Bildung von Gas oder Säure nicht auf Zuckergärung schließen und muß bei der Beurteilung der Resultate immer vorsichtig sein, weil sie auch aus Eiweiß geringe Menge von Säure oder Gas bilden können, wie Kruse (S. 347), Henry, Hall, Kahn, Kendall, Bienstock können, wie Kruse, Henry, Hall, Kahn, Kendall, Bienstock, Rodella u. a. nachgewiesen haben. Bei unseren Bazillen konnte ich durch quantitative Untersuchungen feststellen, daß Dextrose, Maltose, Saccharose, Glyzerin und Raffinose gespalten werden, nicht aber Laktose und Mannit. Auf Grund der Gas- und Säurebildung kann ich auch mit Wahrscheinlichkeit sagen, daß Lävulose und Dextrin, aber nicht Pentose (Arabinose, Rhamnose) und Inulin von diesem Bazillus angegriffen werden.

5) Veränderung der Reaktion des Nährbodens. Unser Bazillus kann aus Eiweiß außer Alkali auch geringe Menge Säure bilden und so die Reaktion des Nährbodens verschiedenartig verändern. Wahrscheinlich ist die Anfangsreaktion und der Zuckergehalt desselben auch dabei maßgebend.

6) Sporenbildung. In jedem Nährboden werden Sporen gebildet. Besonders sowohl der absoluten Zahl nach wie im Vergleich mit den vegetativen Formen, ist die Sporenbildung auf den Nährböden schnell und reichlich, die das Wachstum des Bazillus begünstigen, vor allem auf solchen Nährböden, denen tierisches Gewebe zugesetzt ist (Passini, Selter, Gaethgens, von Hibler, Hall, Kolle, Ritz und Schloßberger). Aehnliche Befunde haben auch Buchner, Lehmann und Osborne, Schreiber und Stephanidis beim Milzbrandbazillus beobachtet. Die Sporenbildung unseres Bazillus beginnt am 1.—3. Tage und erreicht am 2.—4. ihr Maximum; freie Sporen werden schon am 2.—3. Tage beobachtet. Die eigentliche Ursache der Sporenbildung ist in diesem Falle ebenso unbekannt, wie bei den anderen Bakterien (C. Fraenkel, Behring, Lehmann u. Osborne, Buchner, Brefeld, Soyka, Roux, Rodet, Schreiber), aber es scheint mir bemerkenswert, daß die Sporen am reichlichsten gebildet werden, wenn der Bazillus schnell und üppig wächst und das Wachstum plötzlich still steht, und wenn der Nährboden einen hohen Gehalt an Fleischextrakt (5—10 Proz.) und Pepton (5 Proz.) hat. Mäßiger Zuckergehalt des Nährbodens beeinträchtigt die Sporenbildung nicht, jedoch hört sie auf, wenn über 5 Proz. zugesetzt wird. Die alkalische Reaktion des Nährbodens ist für die Sporenbildung am zweckmäßigsten, wie die Befunde von Hibler, Simonds, E. Fraenkel, Olsen, Matsushita und Gaehtgens bei anderen Anaërobiern zeigen, doch kann unser Bazillus auch in saurer Reaktion sporulieren. Die optimale Temperatur für die Sporenbildung ist 30—37° C, d. h. die optimale Wachstumstemperatur der Kultur überhaupt.

7) Selbstverdauung. Bei zuckerfreiem Nährboden fängt die Autolyse am 3. Tage an und endet am 10. Tage. Die Autolyse wird etwas gehemmt, wenn man zum Nährboden Zuckerarten zusetzt oder den Nährboden mit Vaseline überschichtet. Aber bei der Klärung der Kultur kommt außer Autolyse noch die Sedimentierung der Bazillenleiber in Frage. Dabei wird das spezifische Gewicht der Bazillenleiber schwerer und das der Nährlösung leichter, entsprechend der Züchtungsdauer. Beispielsweise betrug das spezifische Gewicht der Bazillenleiber am 1. Tage 1179, der Traubenzuckerbouillon 1015; dagegen am 7. Tage das spezifische Gewicht der Bazillenleiber 1223, der Traubenzuckerbouillon 1005.

8) Widerstandsfähigkeit. 1) Vegetative Form. Zur Prüfung der Resistenz der vegetativen Form benutzte ich die 12stünd. Kultur (37° C). Der Nährboden war zuerst 0,5 Proz. sauer. Die Kultur war deshalb sporenfrei. Die Ergebnisse sind folgende; Resistenz gegen feuchte Hitze: 100° C 6 Min., 80° C 50 Min. 60° C 80 Min. Resistenz gegen Sauerstoff: ziemlich schwach, in einer Schicht von 2 mm Tod innerhalb 17—24 Std. Dieser Befund ist den Befunden von Pasteur,

Lüderitz, Chudiakow und Bachmann ähnlich. Resistenz gegen Sonnenlicht: sehr stark. — 2) Dauerform. v. Hibler, Zeißler, Becker sowie Esty und Meyer haben an Anaërobiern die Widerstandskraft der Sporen gegen feuchte Hitze schon geprüft. Ich habe je 0,5 ccm Kultur von Hirnbreinährboden, Leberleberbouillon, Fischnährböden und Pflanzennährböden (insgesamt 33 verschiedene Arten von Kulturmedien), die 3 Tage lang bei 37° C kultiviert waren, in flüssigen Traubenzuckeragar übertragen, der vorher schon auf 100° C erhitzt war. Dann habe ich den Agar 15 Min. bis 1 Std. lang dieser Temperatur ausgesetzt und alsdann bei 37° C bebrütet, nachdem ich ihn in kaltem Wasser abgekühlt hatte. Die Resistenz schwankte zwischen 2—8 Std. Die Sporen, die in Nährböden mit wachstumsförderndem tierischen oder pflanzlichen Gewebe gebildet werden, waren widerstandsfähiger, und je mehr Sporen eingeimpft wurden, desto größer war auch die Widerstandsfähigkeit. Bei 120° C wurden sie in 20 Min. ganz sicher abgetötet. Im ganzen war also die Sporenresistenz unseres Bazillus sehr groß. Kossowicz hat angegeben, daß der Putrificus bei 120° C 20 Min. lang sterilisiert werden soll, und Kakiuchi hat 3 widerstandsfähige Aërobier gefunden, die aus Konservenbüchsen herausgezüchtet wurden und die Hitze von 121° C 30 Min. ertragen haben. Auf Grund dieser Tatsachen müssen wir entsprechend lange Zeit sterilisieren, um einen verschieden großen Büchseninhalt keimfrei zu machen, aber wie Vaillard, Weinzirl sowie Savage, Hunwike und Calder (Food Investigation Board London) angeben, können Konserven, obwohl sie lebende Fäulnisbakterien enthalten, unzersetzt bleiben. Es sieht nach den Angaben aus dem englischen Nahrungsmitteluntersuchungsamt so aus, als ob es genüge, den Büchseninnenraum nur so weit sauerstofffrei zu machen, daß nicht nur Aërobier, sondern auch Anaërobier am Wachstum verhindert werden.

Tierversuch.

1) Bei der subkutanen oder intramuskulären Impfung von 48stünd. Kultur auf Knorr-Heimschem Nährboden oder Hirnbreinährboden bekommt das Meerschweinchen oder Kaninchen eine vorübergehende lokale, entzündliche Anschwellung, die manchmal zur Nekrose führt. Mäuse erkranken durch intraperitoneale Impfung mit 2—4tägiger Kultur von verschiedenen Nährböden, Kaninchen durch intravenöse Injektion mit 48stünd. Kultur vom Knorr-Heimschen Nährboden an allgemeiner Vergiftung, und die Tiere sterben nicht selten daran. Bei Kaninchen kommt Anämie oder Hyperämie der peripheren Gefäße, Myosis oder Mydriasis zustande, und es werden auch anaphylaxieähnliche Erscheinungen beobachtet. Bei Eingabe per os sieht man bei Affen, Kätzchen, Kaninchen, Meerschweinchen oder Mäusen keine krankhaften Erscheinungen. Aus diesen Beobachtungen kann man schließen, daß dieser Bazillus keine progressive Krankheit hervorruft, und die Kultur wie das originäre Material bei diesen Tieren Botulismus oder Magendarmkatarrh nicht hervorrufen kann. Dagegen kann die intraperitoneale oder intravenöse Applikation der Kultur bei Mäusen und Kaninchen allgemeine Vergiftungserscheinungen hervorrufen. So haben Date und Barger auch bei Kaninchen bei Impfung mit Kultur von B. sporogenes anaphylaktoide Erscheinungen gesehen und erklärt, daß diese von peptonähnlichen Substanzen herrühren, die bei der Zersetzung von Eiweiß im Nährboden entstehen. Weinberg und Séguin glaubten, daß sie von einem spezifischen Toxin verursacht werden. In unserem Falle ist aber die Annahme einfacher, daß die anaphylaktoiden Erscheinungen bei Kaninchen auf ein unspezifisches Toxin zurückzuführen sind.

Medical Research Committee (1919) beschreibt, daß manche apothogene Anaërobier auch unspezifische Gifte in ihrer Kultur, besonders in Muskelbouillon (am besten nach 6 Tagen) bilden, und meint, daß dieses Gift flüchtig ist und aus Ammoniaksalz besteht. Mc Intosh und Fildes glaubten, daß es sich um eine schwefelhaltige Substanz, wahrscheinlich um Schwefelammonium, handelt. Diese Versuche wurden von den genannten Autoren nur mit Meerschweinchen gemacht. Beim Gift von unserem Bazillus für Mäuse aber aus den Tatsachen, daß die Bakterienleiber, selbst in großen Mengen eingespritzt, für Mäuse nicht giftig sind, ferner, daß dieses Gift thermostabil ist, seine Bildung nicht von der Reaktion des Nährbodens abhängt, frische Kultur giftiger ist als die alte, und daß es keine Inkubationszeit für die Giftwirkung gibt, möchte ich schließen, daß das Gift für Mäuse wahrscheinlich im Gegenteil von den obigen aus nichtflüchtigen Stoffwechselprodukten besteht.

2) Erklärung der Vergiftung mit den bombierten Sardinenkonserven. Die Nahrungsmittelvergiftung, die angeblich von bombierten Sardinenkonserven hervorgerufen wurde, verlief in Form von akuter Gastroenteritis oder Cholera. Es sind bereits viele Fälle von Fleischvergiftungen in der Form von akutem Magendarmkatarrh mitgeteilt worden, bei denen die gewöhnlichen Erreger vom Nahrungsmittelvergiftungen, wie B. enteritidis Gärtner, B. paratyphi, B. proteus und B. coli, wie bei der Fleischvergiftung gefunden wurden. In einem solchen Falle hat Stewart auch einmal den B. enteritidis sporogenes Klein gefunden. Aber es ist sicher, daß unser Bazillus weder einer von den oben erwähnten, noch der B. botulinus ist. Auf Grund verschiedener anderer Tatsachen ist außerdem bei dieser Vergiftung anzunehmen, daß dieser Bazillus keine ursächliche Rolle bei dieser Vergiftung spielte, sondern der Konserveninhalt nach Oeffnung der Büchse bei der weiteren Zubereitung mit einem der bekannten Fleischvergiftungsbakterien verunreinigt wurde.

Immunitätsreaktionen.

1) Immunisierungsmethode.

Gewöhnlich braucht man zur Immunisierung mit Anaërobiern als Impfstoff 24—48 Std. alte Traubenzuckerbouillonkultur oder deren Zentrifugat, das nach Auswaschen in Kochsalzlösung aufgeschwemmt wird. Man könnte aber auch lebende oder abgetötete Bakterien in anderen flüssigen oder festen Nährböden benutzen. Bei den Bakterien, die Toxin produzieren können, wird das Impfmaterial vor der Impfung durch Erhitzung oder durch Neutralisierung mit Antitoxin unschädlich gemacht. Die Impfmenge und das Intervall zwischen den Impfungen wechselt bei den verschiedenen Autoren. Im großen und ganzen ist es jedoch schon genügend, wenn man die gewöhnliche Immunisierungsmethode anwendet: Man entblutet die Kaninchen in der Regel 4—10 Tage nach 4—8-maliger intravenöser Injektion. Ueber Immunisierungsmethoden bei Anaërobiern machen Starin und Dack besonders genaue Angaben.

2) Agglutination.

Die Technik der Agglutinationsversuche bei Anaërobiern ist ganz gleich wie bei Typhus-, Paratyphusbazillen usw. Als Bakterienaufschwemmung braucht man dasselbe Material wie bei der Immunisierung. Nur muß man dabei durch Gazefiltration oder schwache Zentrifugierung etwaige größere Bakterienhaufen beseitigen. Die Temperatur, in der die Probe gehalten wird, ist gewöhnlich 37 ° C, aber auch 50 ° C (Starin und Dack), 56 ° C (Med. Research. Committee 1919) oder 70 ° C usw., und zwar im allgemeinen 2 Std. lang. Dann wird das Resultat abgelesen. Um lästige Pseudoagglutination zu verhüten, wird die Bakterienaufschwemmung auf 60—70 ° C 10 Min. lang erhitzt (Passini), oder alte Kultur (Passini) gebraucht. Auch die Reibemethode (Plaut) oder das Zentrifugierverfahren (Gaehtgens) können wir zur Anwendung bringen. Nach der Erfahrung verschiedener Autoren, denen ich beistimme, ist es nicht vorteilhaft, nach längerer Zeit als nach 2 Std. das Resultat abzulesen. Die unspezifischen Ergebnisse von Passini sowie Conradi und Bieling können auf das Arbeiten mit zweifelhaften Reinkulturen zurückzuführen sein. Demgegenüber aber waren die Resultate von Werner, Gaehtgens, Pfeiffer und Bessau vollständig spezifisch. Jedes Antiserum reagierte dabei nur mit dem homologen Stamm. Auf der anderen Seite differenzierten Robertson, Weinberg und Séguin (Bazillen der Oedemgruppe), Tulloch (B. tetani), Bronfenbrenner und Schlesinger, Meyer sowie Starin und Dack (B. botulinus) mit dieser Methode Untergruppen der betreffenden Keimarten. Was die Agglutination des Putrificus und der ähnlichen Bakterien betrifft, so gibt es hierüber Angaben von Passini, Rochii, Pfeiffer und Bessau, Mc Intosh und Fildes, Henry, Weinberg und Séguin, Starin und Dack, Hall usw. Die Angaben der beiden erstgenannten Autoren sind aber wegen der Möglichkeit der Verunreinigung der Kultur mit Vorsicht zu bewerten. Hall hat an 24 Stämmen von B. sporogenes mit 6 verschiedenen monovalenten Antisera Agglutinationsreaktion gemacht. Mit Ausnahme von 3 Fällen waren seine Resultate bei Kreuzversuchen ganz spezifisch. Das Antiserum konnte andere Stämme mitbeeinflussen, die dieses Serum nicht geliefert haben.

Ich selbst habe nach 5maligen Einspritzungen unseres Stammes, ferner des B. putrificus Bienstock, B. putrificus verrucosus, Uhrzeigerbazillus, Fraenkelschen Bazillus und Malignesödembazillus Antisera erhalten. Das Antiserum, das ich mit unserem Bazillus erhalten habe, agglutinierte anfänglich in einer Verdünnung von 1:6400, aber es wies nach 1 Monat nur noch einen Titer von 1:800 auf. Daß unser Stamm immunisatorisch verwandtschaftliche Beziehungen zu den anderen Fäulnisbakterien hat, ergab sich daraus, daß das Antiserum, das mit unseren Bakterien gewonnen war, eine schwache Wirkung auf die oben genannten Fäulnisbakterien ausübte und umgekehrt. Aber zu Bakterien von anderen anaëroben Gruppen hat er keine nahen Beziehungen.

3) Präzipitation.

Ueber Präzipitation mit Anaërobiern gibt es wenig Literatur. Nur Passini, v. Hibler, Conradi u. Bieling, Bonhoff und Gaethgens haben sich damit beschäftigt.

Während der letzte Autor als Antigen Filtrat von autolysierter Aufschwemmung von auf zuckerhaltigem Agar gewachsener Kultur benutzte, habe ich als Antigen Filtrate von 1 Monat alten Traubenzuckerbouillonkulturen (37° C) der verschiedenen oben erwähnten Bakterienarten angewendet. Zum Filtrieren benutzte ich Seitzsche Filter und befolgte die Präzipitationstechnik von Uhlenhuth. Das Resultat wurde nach 1 Std. bei Zimmertemperatur abgelesen.

Der Titer reicht nur bis zur 5—10fachen Filtratverdünnung. Die verwandtschaftlichen Beziehungen der Fäulnisbakterien untereinander stellen sich im Präzipitationsversuch fast ebenso wie im Agglutinationsversuch dar. Bemerkt sei noch, daß es vorteilhaft ist, beim Präzipitationsversuch die Kapillarmethode (Hauser, Carnwath) anzuwenden.

4) Komplementbindungsversuche.

Rochii, Leuchs, Bitter, Medical Research Committee, Bonhoff, Gaethgens sowie Kolle, Sachs und Georgi haben bei Anaërobiern diese Methode benutzt.

Ich habe abzentrifugierte und 2mal gewaschene 48stünd. Traubenzuckerbouillonkultur vor den erwähnten Fäulnisbakterien und den anderen Anaërobiern in physiologischer Kochsalzlösung aufgeschwemmt und $^1/_{20}$ der unteren Hemmungsdosis als Antigen gebraucht. Diese Reaktion zeigte stärkere Gruppenreaktion als die zwei vorigen und wies sogar mit anderen Bakteriengruppen von Anaërobiern verwandtschaftliche Beziehungen auf, wenn die Reaktion auch nicht so stark war als diejenige mit der homologen Gruppe.

Aus alledem muß man den Schluß ziehen, daß die oben erwähnten drei Immunitätsreaktionen als Hilfsmittel zur Differenzierung der Anaërobier nur einen bedingten Wert haben.

Differentialdiagnose.

1) Bei der Differenzierung von Anaërobiern muß man in erster Linie darauf achten, daß die Kultur absolut rein ist und starke Lebensenergie hat, auch ist es nötig, daß man sie mit einem anderen sicher anerkannten Stamm

vergleicht, indem man mit der gleichen Technik und unter gleichen Bedingungen Vergleichsprüfungen anstellt. Die Erfüllung dieser Bedingungen ist nicht immer leicht (Zeißler, Hall), und daher können bei der Diffferenzierung Täuschungen oder Irrtümer vorkommen. Ferner muß man auf die relativ wenig veränderlichen Eigenschaften Wert legen und einzelne Befunde nicht zu hoch einschätzen. Man achtet besonders auf folgende Merkmale: die Bildung, Form, Lage und Widerstandsfähigkeit der Sporen, Anschwellung des Bazillenleibes, die Beweglichkeit und auch die Stärke derselben, die Begeißelung, die Verflüssigung von koaguliertem Serum und Gelatine, die Koagulation und Peptonisierung der Milch, die Veränderung des Hirnbrei- und Muskelnährbodens, die Veränderung der Zuckerarten und hohen Alkohole, den Geruch der Kultur und den Tierversuch. Daneben muß man aber auch die Form der Bazillen, bzw. die Ketten-, Pseudofäden- und Blähformenbildung, Granulosebildung, Gram-Färbung, Form der Kolonien, hämolytische Fähigkeit und die Immunitätsreaktionen in Betracht ziehen.

2) Nach den oben erwähnten Befunden gehört unser Bazillus in die Gruppe der anaëroben Fäulniserreger. Aber in der v. Hiblerschen Einteilung haben Nr. X—XIII spezifische Pathogenität und ist Nr. XV schwach beweglich und bildet mittelständige elliptische, wenig widerstandsfähige (bei 100° C 8 Min.) Sporen, die im Milchnährboden selbst von einem lebenskräftigen Stamm nicht gebildet werden; v. Hiblers Nr. XIV (B. cadaveris sporogenes Klein) steht deshalb unserem Stamm am nächsten. Unter den Fäulnisanaërobiern, die Pfeiffer und Bessau beschrieben haben, sind Paraödembazillus, Kaettlitz D und Werner D nicht oder wenig beweglich. Sie bilden wenige mittel- oder endständige Sporen, die den Bazillenleib niemals auftreiben. Voß 10 macht Ausläufer um den Stichkanal, wächst schwer in Serum- und Hirnnährboden und bildet keine Sporen in der 14tägigen Kultur von Muskelbouillon. Deshalb ähnelt unter den Fäulnisanaërobiern von Pfeiffer und Bessau der Uhrzeigerbazillus unserem Bazillus am meisten. Der Stamm K. I (Klose) wurde auf der 3. Kriegschirurgentagung in die Putrificus-Gruppe eingereiht, obwohl seine Bouillonkultur eine stärkere Pathogenität gegen Mäuse und Meerschweinchen hat. Andererseits gehört unser Bazillus zur 1. Gruppe der Einteilung des Medical Research Committee 1919, weil er subterminale Sporen hat, koaguliertes Serum und Gelatine verflüssigt und daneben auch Zucker vergärt. Aber der B. bifermentans (Tissier und Martelly) hat keine Beweglichkeit, seine Sporen sind gewöhnlich mittelständig und blähen nicht den Bazillenleib auf, und die Kolonien des hochgeschichteten Agars haben keinen Faserbau und sind geschlossen. B. aerofoetidus (Weinberg und Séguin) ist schwach grampositiv, hat schwache Beweglichkeit, bildet schwer Sporen und kann Laktose (Mc Intosh) spalten. Seine Oberflächenkolonie ist zerschlissen. B. histolyticus (Weinberg und Séguin) ist meist ein Diplobazillus, bildet auf der Platte und in der Schüttelkultur eine andere Kolonieform wie unser Bazillus, peptonisiert koaguliertes Serum langsam, bildet kein Gas in Milch- und anderen Nährböden (Kahn), bildet in 1 Woche weniger Säure aus Maltose, Dextrose und Stärke, verändert nicht die Farbe des Muskelstückes im Muskelnährboden (Medical Research Committee), bildet in der 18-stünd. Bouillonkultur ein spezifisches Toxin, verflüssigt bei der sub-

kutanen Impfung von Meerschweinchen das Bindegewebe (Weinberg u. Séguin, Hall, Medical Research Committee) und verursacht dadurch Gefäßblutungen beim Tiere und seinen Tod. Auch besitzt dieser Bazillus Pathogenität für Mäuse und Kaninchen (Weinberg und Séguin). Daher läßt sich von der 1. Kategorie der Tafel des Medical Research Committee nur B. sporogenes und B. parasporogenes mit unserem Bazillus vergleichen. Nach Halls Klassifikation kommt der B. sporogenes bei der Differenzierung in Frage, der wie unser Bazillus subterminale Sporen hat, beweglich ist, koaguliertes Serum und Gelatine verflüssigt, Hirnbrei schwärzt, aber Laktose nicht angreift; Kulturfiltrate des B. sporogenes haben auch keine Wirkung per os auf Versuchstiere und keine oder schwache Pathogenität bei parenteraler Verabfolgung. B. putrificus Bienstock hat nach Halls Angabe endständige, runde oder rundliche Sporen, verflüssigt langsam das Serum, schwärzt Hirnbrei wenig und kann Glukose nicht spalten.

Nach den oben erwähnten Ausführungen ist unser Bazillus nur mit B. cadaveris sporogenes Klein (v. Hibler), Uhrzeigerbazillus (Pfeiffer und Bessau), B. sporogenes, B. parasporogenes (Med. Research Committee) und eventuell noch mit B. putrificus (Bienstock), B. putrificus tenuis und B. putrificus verrucosus (Zeißler) zu vergleichen. Der Vergleich mit diesen Kulturen ergibt im einzelnen folgendes Bild:

a) B. putrificus Bienstock.

Bienstock hat diese Trommelschlägelbazillen zuerst in Fäzes gefunden (B. putrificus coli) und hielt sie für aërobe Eiweißfäulniserreger, doch ist es ihm später gelungen, aus einer verfaulten Fleischmasse einen anaëroben Fäulniserreger (B. putrificus Bienstock) herauszuzüchten, indem er sie in Fibrinnährböden brachte und davon auf den gleichen Nährboden 8—10mal weiter impfte und die letzte Kultur $1^1/_2$—2 Std. lang auf 80° C erhitzte. Er hat diesen Bazillus mit demjenigen, den er früher gezüchtet hatte, für identisch und die frühere Kultur für unrein erklärt. B. putrificus Bienstock ist grampositiv, lebhaft beweglich, bildet Ketten, Pseudofäden, und endständige (manchmal mittelständige) ovale Sporen, von denen der Bazillenleib aufgetrieben wird, greift das Milchkasein und koaguliertes Serum an und verflüssigt Gelatine, aber spaltet Laktose nicht. Auf dem Gelatinenährboden zeigt er schleierförmiges Wachstum und bildet zerschlissene Kolonien im Gelatinenährboden. Nach der Verflüssigung der Gelatine schlägt sich der Bazillenhaufen als fester Bodensatz nieder, der durch Schütteln nicht wieder zerteilt werden kann. Die Sporen ertragen eine Hitze von 80° C 2 Std. lang, die von 100° C 3 Min., und verlieren ihre Auskeimungsfähigkeit bei 100° C in 5 Min. (Bienstock). Seit dieser Angabe von Bienstock wurde der Bazillus öfters von anderen wieder gefunden. Tissier und Martelly haben ihn bei der Fleischfäulnis, und Tissier und Gashing bei der Fäulnis der Milch gefunden. Kossowicz hat ihn als Erreger von Fäulnis in bombierten Konserven beschuldigt und Rodella ihn bei der Erforschung der Käsereifung festgestellt, wobei er nach der Art der gebildeten Säuren 3 Arten unterscheidet. Außerdem macht Passini (70 Proz.), Metchnikoff und Rettger (50 Proz.) die Angabe, daß dieser Bazillus auch im menschlichen Kot vorhanden sei, aber Rodella und Bienstock konnten diesen Befund nicht bestätigen. Der letztere gibt noch an, daß der von Passini gefundene Bazillus B. paraputrificus sei, der nach ihm in 20 Proz. der Fälle im menschlichen Kot gefunden wird und Laktose und Dextrose spalten kann. Gegenüber diesem Befund hat Metchnikoff den Verdacht geäußert, ob dieser Bazillus überhaupt vorhanden ist, und Graßberger und Schattenfroh sahen in ihm einen denaturierbaren Anaërobier. 1908 hat Bienstock wieder eine Angabe über den B. putrificus gemacht. Er teilte mit, daß dieser Bazillus denaturiertes Eiweiß spalten kann, aber nicht frisches Eiweiß (weil dieses Alexin enthält) und ebenso nicht Kohlehydrat. Den Befund, daß B. putrificus Bienstock Kohlehydrat nicht vergären kann, haben Rodella und Hall bestätigt. Im Weltkrieg haben englische Forscher aus vielen Stämmen, die für B. putri-

ficus Bienstock gehalten wurden, den B. sporogenes und B. cochlearius (Douglas, Fleming und Colebrook) oder B. sporogenes und B. tertius Henry (Hiblersche Art Nr. IX) herausgezüchtet. Nach Halls Meinung entspricht die Eiweißspaltung, die Tissier und Martelly und Bienstock am B. putrificus Bienstock beobachtet haben, derjenigen von B. sporogenes. Diese Fäulnis des B. putrificus Bienstock sei nach ihm eigentlich sehr schwach und dieser Bazillus sei nichts anderes als B. cochlearis. Diese Anschauung von Hall wurde noch dadurch verstärkt, daß der als B. cochlearius vom Lister-Institut zu ihm geschickte Stamm die Eigenschaften von seinem B. putrificus Bienstock hatte. Nach Sturges und Rettger ist die Eiweiß spaltende Fähigkeit des reinen B. putrificus Bienstock am Anfang seiner Entwicklung schwach, wird aber später stärker, wenn erst einmal der Fäulnisprozeß begonnen hat. Zeißler erkennt die starke Eiweiß spaltende Fähigkeit dieser Bazillenart an und unterscheidet ihn nach dem Verhalten auf dem Traubenzuckerblutagar von 2 anderen Unterarten der Eiweißfäulniserreger (Putr. tenuis und verrucosus).

Wie man sieht, fanden verschiedene Autoren die eiweißspaltende Kraft dieses Bazillus verschieden stark. Man muß dabei aber auch daran denken, daß es unreine Stämme oder andere Arten unter den bis jetzt als B. putrificus Bienstock genannten Bakterien gegeben haben kann, und daß die biologischen Merkmale dieses Bazillus verschiedenartig von den Züchtungsbedingungen und von der Lebensenergie des Bazillus beeinflußt werden können.

Wenn man unseren Stamm nach den Bienstockschen Angaben mit dem B. putrificus Bienstock vergleicht, so ist unser Stamm insofern von diesem verschieden, als seine Sporen nicht endständig liegen, die Widerstandsfähigkeit seiner Sporen größer und das Gefüge seiner Kolonie nicht so fest ist und seine Oberflächenkolonie nicht in die Tiefe des Nährbodens eindringt. Daneben ist das Wachstum der Agarstichkultur und die Spaltungsfähigkeit der Glukose bei unserem Stamm anders als bei B. putrificus Bienstock. Nach Halls Beschreibung des Putrificus-Bazillus unterscheidet sich unser Stamm durch die subterminale Lage der Sporen und die Spaltungsfähigkeit von Eiweiß und Zucker.

Nach Zeißlers Beschreibung ist unser Stamm durch seine hämolytische Fähigkeit vom B. putrificus Bienstock zu unterscheiden. B. putrificus tenuis (Zeißler) bildet auf Agarnährboden amöbenförmige oberflächliche Kolonien, die leicht in Autolyse verfallen und koralleninselartige Gestalt annehmen. Eine von Zeißler stammende Kultur des B. putrificus tenuis bildete, wie ich gesehen habe, viel Granulose und meist mittelständige Sporen. Bezüglich des B. putrificus verrucosus (Zeißler) folgen weiter unten einige Angaben.

b) B. sporogenes.

Metchnikoff hat zuerst diesen Bazillus aus Kot gesunder (variété A) und an chronischer Kolitis erkrankter Menschen (variété B) isoliert und glaubte, daß dieser Bazillus zum Oedembazillus gehört, obwohl er bei der Kultur Fäulnisgeruch entwickelte. Aber die Lage der Sporen dieses Bazillus verändert sich je nach dem Nährboden (Muskeltraubenzuckerbouillon oder Milchnährboden) zu stark. Er spaltet Laktose und Glukose (Berthelot). Nach diesen Befunden ist es fraglich, ob der B. sporogenes, den Metchnikoff in der Hand hatte, rein war, auch ist seine Beschreibung von diesem Bazillus nicht deutlich genug. Trotzdem wurde dieser Name von französischen, englischen und amerikanischen Forschern vielfach gebraucht. Besonders im Weltkriege wurde ein mit Var. A identifizierter Bazillus öfters gefunden, z. B. von Weinberg in 27 Proz. unter den Anaërobiern, die in Gasbrandwunden gefunden wurden, von Mc Intosh in 36,5—38,7 Proz., von Henry in 48 Proz. Nach der Beschreibung von Medical Research Committee und Hall ist er aber ein Fäulniserreger und hat gleiche Eigenschaften wie der B. cadaveris sporogenes Klein. Er kann die Krankheitserscheinungen beim Gasbrand verschlimmern, wenn er mit anderen pathogenen Anaërobiern in Symbiose auftritt, ist infolge der Resistenzfähigkeit seiner Sporen über-

all verbreitet und verunreinigt leicht die Kulturen von Anaërobiern (B. Welchii, vibrion septique, B. Chauvoei, B. tetani, B. botulinus, B. tertius, B. cochlearius, B. fallax).

c) B. cadaveris sporogenes Klein.

Dieser Bazillus wurde zuerst von Klein im menschlichen und tierischen Kot gesehen und aus dem Eingeweide von Leichen gezüchtet. Er ist lebhaft beweglich, bildet leicht endständige ovale Sporen, in Gelatine- oder Agarnährboden zerschlissene Kolonien, verflüssigt schnell koaguliertes Serum und Gelatine und hat keine Pathogenität. Im gleichen Jahre, in dem Klein seine Arbeit veröffentlicht hat, hat Bienstock seine Arbeit über den B. putrificus publiziert und seinen Stamm mit dem Kleinschen identifiziert. v. Hibler hat den Stamm, der ihm von Klein geschickt wurde, und 6 Stämme, die er selbst isoliert hatte, untersucht und diese Art mit B. putrificus Bienstock für identisch gehalten. Zeißler hat B. cadaveris sporogenes Klein ebenfalls mit B. putrificus Bienstock gleichgestellt. Coenen hat auch den Uhrzeigerbazillus mit dem Putrificus Bienstock mit Wahrscheinlichkeit identifiziert. Aber B. cadaveris sporogenes Klein kann Traubenzucker spalten (Klein) und läßt sich in diesem Punkte schon von B. putrificus Bienstock nach der Beschreibung von Bienstock unterscheiden. Dagegen sind der Uhrzeigerbazillus (Pfeiffer-Bessau), der B. putrificus verrucosus (Zeißler) und B. sporogenes in ihrer Verbreitung, Form, Beweglichkeit, Widerstandsfähigkeit der Sporen, Verflüssigungsfähigkeit von Gelatine, Milch und Eiweiß, Spaltungsfähigkeit von Kohlehydrat, Form der Kolonien besonders auf der Agaroberfläche und Pathogenität dem B. cadaveris sporogenes Klein sehr ähnlich. Medical Research Commttee (1919) ist auch der Meinung, daß B. sporogenes höchstwahrscheinlich mit der Putrificus-Gruppe der deutschen Forscher gleichzusetzen ist. Unser Stamm hat mit diesem Bazillus in der Lage, Form, Widerstandsfähigkeit und Bildungsfähigkeit der Sporen, Anschwellung des Bazillenleibes durch die Sporen, Veränderung in Milch, Gelatine, Hirnbrei und Serumnährboden und Pathogenität Aehnlichkeit. Aber unser Bazillus bildet im flüssigen Nährboden keinen flockigen Niederschlag, macht auf der Agaroberfläche meningokokkenähnliche Kolonien, deren Oberfläche gefleckt ist, wächst nicht von der Oberfläche in die Tiefe des Nährbodens hinein, zeigt keine wollfadenähnliche Entwicklung im Stichkanal, und seine Kolonieform wird leicht durch Hitzeeinwirkung geändert. Hierdurch unterscheidet er sich von dem Kleinschen Bazillus.

d) B. parasporogenes (Medical Research Committee).

Dieser Bazillus ist identisch mit Mc Intosh's Type XIII (central spore bazillus) und ist nach Hall derselbe wie B. zentrosporogenes (Hall), B. liquefaciens magnus (Lüderitz) und B. sporogenes Metchnikoff (variété B). Er hat gleiche Eigenschaften wie B. sporogenes und unterscheidet sich von ihm nur in der Form der tiefen Agarkolonie und durch die Immunitätsreaktion (Medical Research Committee). Seine Sporen sind aber meist mittelständig (Medical Research Committee), sein Leib wird dadurch nicht aufgetrieben (Hall), er bildet auf der Agaroberfläche unregelmäßige tautropfenähnliche Kolonien, die federähnliche Ausläufer entsenden, und bildet in der Agartiefe linsenähnliche oder etwas unregelmäßige Kolonien, die später mit Fortsätzen versehen sind (Medical Research Committee). Dadurch ist dieser Bazillus von unserem Stamm leicht zu unterscheiden.

e) Die anderen Fäulnisanaërobier, die sich in der Literatur finden:

Seitdem Pasteur die Fäulniserscheinungen auf Anaërobier zurückführte, haben Flügge, Liborius, Sanfelice, Santori u. Kuhn, Beijerinck, Bienstock, Klein, Salus, Tissier u. Martelly, Rettger, Schattenfroh u. Graßberger, Passini, Rodella u. Metchnikoff usw. die gleiche Meinung geäußert. Sanfelice hat 9 Arten von Anaërobiern, von denen die 5., 6. und 7. Art unserem Bazillus ähnlich sind, aus faulendem Fleisch, Erde und Kot von Pflanzenfressern gezüchtet. Aber die Beschreibung ist nicht genau genug, um unseren Stamm mit den seinen zu identifizieren. Bienstock hat nach Fäulnisversuchen mit Fibrin außer dem B. putrificus Bienstock noch das B. clostridium foetidum (Liborius), den B. liquefaciens magnus, B. spinosus (Lüderitz), Malignesödembazillus (Kerry) und Rauschbrandbazillus (Nencki) als Fäulniserreger bezeichnet. Salus hat mit derselben Methode, die Bienstock mit faulendem Fleisch durchgeführt hat, den B. saprogenes carnis und B. clostridium foetidum carnis gefunden. Rettger (1912) hat auch außer den B. putrificus Bienstock Malignesödembazillus und Rauschbrandbazillus zu den Fäulniserregern gezählt. Aber nach Meyer, Robertson, Me-

dical Research Committee sowie Weinberg und Séguin haben der Malignesödembazillus und Rauschbrandbazillus in der Regel keine nennenswerte Eiweißspaltungsfähigkeit. Infolgedessen können sie keine stinkenden Produkte bilden. Und unter den oben genannten Fäulniserregern wurden B. clostridium foetidum (Liborius) von Hibler, B. spinosus (Lüderitz) von Klein mit B. cadaveris sporogenes identifiziert und B. liquefaciens magnus (Lüderitz) von Hall mit B. centrosporogenes. Die Sporen von zwei Anaërobiern, die Salus gezüchtet hat, werden bei 80° C in 2 Std. getötet. Man muß sie alle 14 Tage umzüchten. B. saprogenes carnis bildet Indol, macht Milch sauer und schlägt Kasein nieder. Seine Kultur besitzt auch Buttersäuregeruch. B. clostridium foetidum carnis macht mittelständige Sporen und koaguliert Milch. Daher sind beide Bazillen mit unserem nicht identisch.

f) Die Anaërobier, die in Fleisch- und Fischkonserven gefunden wurden.

Prescott u. Underwood (1897, 1898), Vaillard (1900), Deichstetter (1901), Teyxeira (1900, 1912), Pfuhl (1904), Cathcart (1906), Mc Bryde (1907), Fowler (1909), Sammet (1911), Billinge (1916), Buschnel und Utt (1917), Kossowicz (1917), Sadler (1918), Sadler, Mounce und Shanly (1919), Bartlett (1919), Obst (1919), Weinzirl (1919), Cheyney (1919), Hunter und Thom (1919), Kakiuchi (1921) und Savage, Hunwike u. Calder (englisches Nahrungsmitteluntersuchungsamt 1922) haben Fleisch- und Fischkonserven untersucht. Unter diesen Forschern haben Cathcart, Sammet, Billinge, Sadler, Mounce u. Shanly, Bartlett, Weinzirl, Cheyney, Obst und das englische Nahrungsmitteluntersuchungsamt Angaben über Sardinenkonserven gemacht. Obst hat von verschiedenen Fabriken in den Vereinigten Staaten 287 und von Norwegen 7 bombierte Sardinenkonserven gesammelt und untersucht. Sie hat in fast allen Konserven einen dem Walfischseptikämiebazillus am nächsten stehenden Anaërobier in Reinkultur gefunden und stellte diesen Bazillus auch in Speiseresten, im Sardinendarm, in Futter von Sardinen und auch im Fabrikstaub fest. Der Konserveninhalt, der von Obst untersucht wurde, hatte viele Gasblasen und Sporen in Reinkultur und roch süßlich und nach Schwefelwasserstoff. Der Obstsche Bazillus bildet sehr leicht Sporen, so daß eine 8stünd. Kultur keine sporenlosen Bazillen mehr aufweist. Außerdem hat der Bazillus keine Beweglichkeit, spaltet Laktose und koaguliert Milch. Bazillus B., den sie ebenfalls fand, bildet Sporen, die bei 45° C in 2 Min. sterben, und hat besondere Pathogenität für Mäuse. Beide Bazillen weichen deshalb ebenfalls von unserem ab. Das englische Nahrungsmitteluntersuchungsamt hat unter 323 Konserven, von denen 240 verdorben waren, in 27 Fällen Anaërobier gefunden, davon in 18 Fällen aus Seetierkonserven. Der B. sporogenes-Typus wurde dabei 7mal gesehen, aber er spaltete Laktose und bildete keine Pseudofäden. Der Rauschbrandbazillustypus (12 Fälle) verflüssigt Serum nach 2 Wochen Wachstum noch nicht, zeigt manchmal bei Meerschweinchen Pathogenität, verhält sich verschieden je nach den Stämmen gegen Saccharose und Salizin und spaltet in 9 Fällen Laktose. Von 3 weiteren gefundenen Anaërobenarten zeigte die 1. Art keine gute Sporenbildung, wuchs auf Traubenzuckeragar schlecht und verflüssigte Serum am 7. Tage noch nicht. Die 2. Art spaltete Laktose und verflüssigte Serum in 2 Wochen nicht. Die 3. spaltete Laktose, hatte aber keine Tierpathogenität. Alle diese im Londoner Nahrungsmitteluntersuchungsamt gefundenen Anaërobier sind also verschieden von dem unsrigen.

Außer den oben erwähnten Anaërobiern wurden noch von anderen Untersuchern Anaërobier in Konserven gefunden, wurden aber nur als B. putrificus Bienstock bezeichnet oder nicht genau erforscht.

3) Schlußfolgerung.

Aus vorstehend aufgeführten Tatsachen ergibt sich, daß unser Bazillus eine besondere Art von anaëroben Fäulniserregern darstellt und von denjenigen, die bis jetzt bei Gasbrand, in Konserven, Faulsubstanzen und Kot gefunden wurden, in wesentlichen Punkten verschieden ist.

In den folgenden Abschnitten werde ich noch einige Beobachtungen über die Bildung von atypischen Kolonienformen und von Blähformen bei unserem Bazillus mitteilen.

Ueber die Kolonienformen unseres Bazillus auf Agarnährboden.

Wenn unser Bazillus unter gewöhnlichen Züchtungsbedingungen auf oder in gewöhnlichem Agar- oder Traubenzuckeragarnährboden gezüchtet wird, die aus Yajirushi- oder Liebigs Fleischextrakt (1 Proz.), Teruuchi- oder Witte-Pepton (1 Proz.) und Kochsalz (bei Yajirushi-Fleischextrakt 0 Proz.), Agar (2 Proz.) bzw. Merckschem Traubenzucker (2 Proz.) besteht und dessen Reaktion bis zum Phenolphthaleinneutralpunkt korrigiert ist, so bildet er, falls die Kolonien auf dem Nährboden nicht zu dicht stehen, immer Kolonien der typischen Form. Erst wenn irgendeine Verschlechterung der Lebensenergie der Kultur oder der Züchtungsbedingungen stattfindet, bildet er atypische Kolonien. v. Hibler hat bei seinen Anaërobiern solche atypische Kolonien gesehen und angenommen, daß sie dann vorkommen, wenn die Nährbodenoberfläche zu feucht ist, die Reaktion und die Bestandteile des Nährbodens geändert sind, die Lebensenergie der Bakterien abnimmt oder sie unter schädigenden Kulturbedingungen gezüchtet werden. Heller suchte die Entstehungsursache der atypischen Kolonie in Schüttelkulturen auf Feuchtigkeit des Nährbodens, Schnelligkeit seiner Abkühlung und Beschaffenheit des Nährbodens, auf die Züchtungstemperatur, Säurebildung und Bewegungsfähigkeit der Bazillen zurückzuführen. Kamen, Wicklein, Hibler, Scholz, Pfeiffer u. Bessau u. a. haben beim Fraenkelschen Bazillus in Schüttelkulturen Kolonien mit Fortsätzen gesehen. Die letzteren beiden Autoren haben auch beim Uhrzeigerbazillus beobachtet, daß er im Traubenzuckeragar selten schlechte Ausläufer bildet. Kolle, Ritz und Schloßberger haben bei ihren Stämmen aus der Gasödemgruppe bemerkt, daß sie atypische Kolonieform bilden, und daß manchmal in demselben Nährboden zwei Formen von Kolonien vorkommen, wenn der Stamm des öfteren überimpft oder in wechselnden Nährböden gezüchtet wird. Sie konnten auch feststellen, daß die beweglichen Bakterien geschlossene Kolonien bilden, wenn Traubenzucker zum Nährboden hinzugesetzt wird. Aehnliche Angaben darüber, daß die Kolonieformen der Anaërobier leicht atypisch werden können, sind in der Literatur noch öfter zu finden.

Bei der Prüfung der Widerstandsfähigkeit unseres Bazillus habe ich ebenfalls das Auftreten atypischer Kolonien bemerkt und über die Entstehungsursache einige Versuche gemacht, über die ich im folgenden berichten möchte.

a) Temperatur und Kolonieformen.

1. Versuch. Ich beimpfte Kulturröhrchen mit einem auf 45°, 50°, 55°, 60° oder 100° C vorgewärmten flüssigen Traubenzuckeragar mit Spuren bis 3 Oesen einer Traubenzuckerbouillonkultur, die bei 37° C 24 Std. lang gewachsen und lebenskräftig war. Nach der Impfung wurden diese Schüttelkulturen bei Zimmertemperatur 1—10 Min. stehen gelassen, dann im kalten Wasser zum Erstarren gebracht und bei 37° C 3 Tage lang bebrütet. Durch Kontrollierung der einzusäenden Keimzahl habe ich stets festgestellt, daß sich in jeder Probe eine etwa gleichgroße Kolonienzahl entwickelte. Wurden die bei 50° C beimpften Schüttelkulturen vor dem Abkühlen 3 Min., bei 55° C 3 Min., bei 60° C 2 Min. und bei 100° C 1 Min. in Zimmertemperatur belassen, so fanden sich teilweise geschlossene atypische Kolonien. Erst wenn die Schüttelkulturen bei 50° C bis zur Agarerstarrung oder bei 55° C 10 Min., 60° C 5 Min., und bei 100° C 2 Min. in Zimmertemperatur gehalten und dann abgekühlt und kultiviert wurden, entwickelten sich alle Kolonien als geschlossene.

2. Versuch. Dieselbe Traubenzuckerbouillonkultur, die im vorigen Versuche gebraucht wurde, habe ich in ein Wasserbad von 100° C gestellt und davon nach 1—10 Min. Schüttelkulturen mit auf 45° C abgekühltem Traubenzuckeragar angelegt. Nach sofortiger Abkühlung der Kultur habe ich sie bei 37° C eingestellt und nach 24 Std. untersucht. Wenn die Traubenzuckerbouillonkultur 5—7 Min. im Wasserbade gehalten wird, so bildet die davon gezüchtete Kultur geschlossene Kolonien.

3. Versuch. Ich habe Reinkulturen meines Bazillus auf 11 Arten von Pflanzen- und Fischnährböden, und zwar jede derselben eine bis 8 Std. lang, einer Hitze von 100° C ausgesetzt. 0,5 ccm davon wurden dann in verflüssigten Traubenzuckeragar geimpft, sofort abgekühlt und 1 Woche lang im Brutschrank gehalten. Es ergab sich dabei, daß die Sporen bei Züchtung auf Pflanzennährboden sehr leicht von der Hitze beeinflußt wurden. Schon bei 1stünd. Erhitzung wuchsen aus den Sporen teilweise geschlossene Kolonien. Bei Verwendung von Fischnährböden war es nötig, länger als 1 Std. zu erhitzen, um geschlossene Kolonien zu erhalten, und es bedurfte einer Erhitzung von 7 Std., um alle Kolonien geschlossen wachsen zu lassen.

4. Versuch. Nachdem ich das gleiche Material wie beim 1. Versuch in flüssigen Traubenzuckeragar (45° C) eingeimpft und abgekühlt hatte, züchtete ich es bei verschiedenen Temperaturen. Bei 20—24° C wurden stets typische zerschlissene Kolonien und bei 42—50° C atypisch geschlossene gebildet.

Wie aus den vier vorgenannten Versuchen ersichtlich ist, ist für die Bildung der Kolonieform die Temperatur von großer Bedeutung.

b) Das Alter der Kultur und die Kolonieform.

Wenn man beim ersten Versuch des vorigen Abschnittes anstatt frischer 24stünd. eine alte Kultur gebraucht, die nach 24stünd. Wachstum bei 37° C noch 2 Wochen lang bei Zimmertemperatur gehalten wurde, so wird die geschlossene Kolonieform viel leichter gebildet. Dieselben Befunde werden wir auch im folgenden Abschnitt wiederfinden. v. Hibler hat bei vielen Anaërobiern nicht nur nach unmittelbarer Aussaat von Keimen aus alten Kulturen atypische Kolonieformen auftreten gesehen, sondern bisweilen noch nach Aussaaten von ihren ersten oder selbst zweiten Abkömmlingen, die sich nach Uebertragung in frische Nährsubstrate entwickelten.

c) Die Art des Nährbodens und die Kolonieformen.

v. Hibler hat angegeben, daß manche Anaërobier in Agar- oder Gelatineschüttelkultur gern atypische Kolonien bilden, wenn sie von Milchkultur gezüchtet werden. Unser Stamm weist in dieser Hinsicht keine solche Abhängigkeit von Milch oder von einer anderen Nährbodenart auf.

d) Die Reaktion des Nährbodens und die Kolonieformen.

v. Hibler bemerkte ferner, daß die Anaërobier geschädigt werden und atypische Kolonien bilden, wenn sie in einem Nährboden gezüchtet werden, der von vornherein eine ungeeignete Reaktion hat oder im Verlaufe des Wachstums der Mikroben eine ungünstige Reaktion bildet. Besonders bei kohlehydrathaltigem Nährboden werden v. Hiblers Arten Nr. I—IX beeinflußt. Ich habe die frische Kultur unseres Stammes in Traubenzuckeragar mit Abstufung der Reaktion zwischen 1proz. Normalsäure und 2proz. Normalalkali gezüchtet. Die Kolonieform wurde durch die Reaktionsveränderung nicht sehr deutlich, aber doch in der Weise beeinflußt, daß sie bei saurer Reaktion zur Bildung zerschlissener, bei alkalischer zur Bildung geschlossener Kolonien neigt.

e) Einfluß der Konzentration der einzelnen Bestandteile des Nährbodens auf die Kolonieform.

In Traubenzuckeragar, dessen einzelne Bestandteile in verschiedenem Verhältnisse verändert wurden, habe ich frische Traubenzuckerbouillonkultur, die bei 37° C 24 Std. gezüchtet war, und ebenso alte, die nach 24stünd. Bebrütung noch 2 Wochen lang bei Zimmertemperatur gehalten wurde, hineingeimpft und nach erfolgter Abkühlung bei 37° C 3 Tage lang gezüchtet. Die alte Kultur wurde dabei mehr beeinflußt als die frische. Im einzelnen übt die Zunahme der Menge des Fleischextraktes und des Traubenzuckers einen Einfluß auf die Kolonieform der Art aus, daß der Bazillus zur Bildung geschlossener Kolonien neigt. Die Veränderung des Peptongehaltes beeinflußt sie nicht so stark. Wurde kein Kochsalz zum Nährboden zugesetzt, so neigte die alte Kultur in 1-proz. und 2-proz. Agarnährböden und die frische im 1-proz. dazu, geschlossene Kolonien zu bilden. Auch im 5-proz. Agarnährboden, der Kochsalz enthält, sind geschlossene Kolonien zu finden.

f) Die Höhe der Nährbodensäule und die Kolonieform.

v. Hibler hat beobachtet, daß sich in den oberen Schichten besäter Kulturröhrchen, soweit darin überhaupt Wachstum erfolgt, oft in auffälliger Weise atypische Kolonien ausbilden, während in den tiefen Schichten ausschließlich typische Kolonien entstehen. Diesc Befunde hat er sowohl bei Gelatine wie auch bei Agarkulturen, und zwar hauptsächlich beim Rauschbrand- und Tetanusbazillus, dann aber auch beim Fraenkelschen, Ghon-Sachsschen und Novyschen Bazillus wahrgenommen. Wie ich schon bei Erörterung der Lebensbedingungen erwähnt habe, ist unser Stamm nicht streng anaërob, sondern bedarf einer gewissen, wenn auch herabgesetzten Sauerstoffspannung. Zu geringe Sauerstoffspannung ist für sein Wachstum nicht vorteilhaft. Deshalb bildet er im oberen Teil der hohen Schicht zerschlissene Kolonien und im unteren Teil geschlossene. Legte ich mit der Reinkultur meines Bazillus in 35 cm langen Glasröhrchen von 0,7 cm Durchmesser Traubenzuckeragarschüttelkulturen (phenolphthaleinneutral) an, so gestaltete sich die Koloniebildung folgendermaßen: In der obersten Schicht typische Kolonien, in der 2. Schicht (fast in der Mitte der Höhe des Nährbodens) Kolonien mit dichterem Kernteil und spärlichen dickeren und kürzeren Ausläufern, in der 3. Schicht Kolonien, die immer mehr eine geschlossene rundliche oder unregelmäßig begrenzte Form annehmen und kompakte granulöse Struktur haben, in der 4. Schicht Kolonien, die sich von den eben genannten nur dadurch unterscheiden, daß sie von einer mattgranulösen Zone umgeben sind und durch Zunahme dieser Zone allmählich mit den benachbarten Kolonien zusammenfließen. In saurem Nährboden (0,5-proz. Normalsäure) sieht man dagegen fast gar keinen Unterschied zwischen Kolonien der oberen und unteren Nährbodenschichten (zerschlissene Kolonien). In alkalischem Nährboden (1-proz. Normalkali) wachsen geschlossene Kolonien von der oberen Schicht an und schon in der nächsten Zone umgibt ein Hauch die Kolonie, die zuletzt in der unteren Schicht ihre begrenzte Form verliert und nur diffuses granulöses und unbegrenztes Wachstum zeigt. Die oben beschriebenen Befunde habe ich nur bei den ersten Generationen unseres Stammes gesehen.

g) Die Bakterienmenge und die Kolonieform.

Wachsen die Kolonien dicht gedrängt, so befinden sie sich unter Bedingungen, unter denen nur geschlossene Kolonien entstehen können, klein und zerschlissen, und haben sie deutlichen Faserbau. Pfeiffer

und Bessau haben beim Fraenkelschen Bazillus einen ähnlichen Befund verzeichnet.

h) Die Häufigkeit der Umzüchtung und die Kolonieform.

Nach Kolle, Ritz und Schloßberger verändert sich die Kolonieform der Anaërobier der Gasbrandgruppe, wenn sie oftmals überimpft werden. Bei unserem Stamm habe ich in Traubenzuckeragar keine derartige Veränderung der Kolonieform gesehen, obgleich ich diesen Stamm über 6 Jahre in Traubenzuckerbouillon züchtete.

i) Immunserum und Kolonieform.

Ich habe mit diesem Bazillus den bakteriziden Reagenzglasversuch nach Neißer und Wechsberg angestellt, aber weder einen Einfluß der Immunsera auf die Zahl noch auf die Form der Kolonien gesehen, Sie behielten ihre typische Form bei.

k) Die Form der Kolonie auf der Agarplatte.

Die Kolonieform dieses Bazillus wird auf der Agarplatte durch die folgenden Faktoren nicht beeinflußt: Zusatz von Traubenzucker zum Nährboden, Aenderung der Reaktion des Nährbodens, Aenderung der Menge von alkalisiertem Pyrogallol beim Gebrauch des Zeißlerschen Nährbodens und das Alter der verimpften Kulturen.

Aus den obigen Darlegungen ist zu ersehen, daß bei unserem Bazillus eine Verminderung der Lebensenergie und ungünstige Lebensbedingungen das Entstehen von atypischen Kolonien verursachen, wie v. Hibler schon angegeben hat. Man hat dabei den Vorgang der Bildung der verschiedenen Kolonienformen mit der Veränderung der Beweglichkeit (v. Hibler, Kolle, Ritz und Schloßberger, Heller, Hutchinson), der Fähigkeit des Eindringens der Bazillen in den festen Nährboden und der Verschiedenheit ihrer Vermehrungsgeschwindigkeit infolge von reizenden Stoffwechselprodukten (v. Hibler) zu erklären versucht. Beispielsweise ist in Fällen, wo unser Bazillus in Gelatinestichkulturen nadelförmige Kolonien bildet, die keinen direkten Zusammenhang mit dem Stichkanal haben, aber vom Stichkanal strahlenförmig angeordnet sind, zu vermuten, daß die Beweglichkeit des Bazillus die Kolonieform beeinflußt. Nun bildet aber die lebhaft bewegliche Kultur unseres Stammes beim hohen Säure- oder Alkaligehalt des Nährbodens, der die Bewegungsfähigkeit der Bazillen lähmt, ganz verschiedene Kolonieformen, in einem Fall zerschlissene, im anderen Falle geschlossene Kolonien. In diesem Falle kann man den Grund nicht nur in der Beweglichkeit der Bazillen suchen.

Außerdem bilden der B. putrificus verrucosus Zeißler, B. putrificus Bienstock, Uhrzeigerbazillus (Pfeiffer und Bessau) und Oedembazillus, die zerschlissene Kolonien auf und im Agarnährboden bilden, im flüssigen Nährboden flockige Gebilde, wachsen auf der Platte ins Nährmedium hinein und sind in Kochsalzlösung schwer zu verteilen. Andererseits macht unser Bazillus und der Fraenkelsche Gasbazillus, die auf der Platte runde geschlossene Kolonien bilden, und der B. putrificus tenuis, der auf der Platte unregelmäßige platte Kolonien bildet, in flüssigen Nährböden eine diffuse, gleichmäßige Trübung, sie wachsen in den festen Nährboden in der Regel nicht hinein und ihre Kultur ist gut in Kochsalzlösung verteilbar. Daraus kann man schließen, daß die Kolonien der Bazillen mit zerschlissener Kolonieform ein festes Gefüge und die mit ge-

schlossener Kolonieform ein weiches Gefüge haben. Dabei scheint es, daß die Kohäsion der einzelnen Bazillenleiber d. h. die Klebrigkeit der Bazillenoberfläche die Form der Kolonie bestimmt. Bei einer Bazillenart, deren Oberflächenklebrigkeit stark ist, wird der Zusammenhang zwischen Bazillen durch die anderen verschiedenen Ursachen nicht so leicht beeinflußt. Die Einzelkolonie zeigt daher faserigen Bau und Ausläufer. Bei den anderen Bazillen, deren Oberflächenklebrigkeit weniger stark ist, wird der Zusammenhang zwischen den Bakterien, Bakterienketten oder -bündeln durch andere Faktoren, wie Eigenbewegung, Einfluß der Stoffwechselprodukte usw., leicht gestört. Deshalb bilden sie auf Platten abgerundete Kolonien. Nur in hoher Schicht bildet unser Bazillus und der B. putrificus tenuis zerschlissene Kolonien, indem ihr schwaches Gefüge hier durch die Konsistenz des Agars gestützt wird. So komme ich zu der Ansicht, daß bei den Anaërobiern außer der Beweglichkeit, Plastizität und den Stoffwechselprodukten die Beschaffenheit der Bazillenoberflächen und ihre Klebrigkeit als ursächliche Hauptmomente für die Bedingung der Kolonieform anzusehen ist. Und bei unserem Bazillus verändern die Temperatur, die Reaktion, die Bestandteile, die Feuchtigkeit, die Härte und die Höhe des Nährbodens und das Alter und die Menge der verimpften Bazillen die Beweglichkeit, die Stoffwechselprodukte und Klebrigkeit der Bazillen derart, daß sie atypische Kolonien bilden können.

Blähformen.

1) Morphologie. Ein Bruchteil oder der ganze Leib der Bazillen ist bei dieser Form aufgebläht. Dabei ist die Zunahme des Breitendurchmessers (manchmal 3—4mal größer als bei der normalen Form) gleichmäßig oder ungleichmäßig und nicht selten ist die Längsachse geknickt. So sehen wir keulen-, schaufel-, trommelschläger-, revolver- und verschiedenartige andere monströse Formen. Der Längendurchmesser beträgt sogar manchmal mehr als das 2—3fache der normalen Form. Im ungefärbten Präparat ist bei diesen Blähformen im allgemeinen nichts im Bakterienleib zu sehen, nur selten findet man einen etwas lichtbrechenden Fleck oder einen unscharf begrenzten ovalen Körper, der einer Sporenkeimanlage ähnelt. Bei Behandlung mit der verdünnten wässerigen Fuchsinlösung (Preisz) sieht man fuchsinophile Körper, die Preisz schon bei der Sporulation des Milzbrandbazillus und anderer Anaërobier feststellte. Diese fuchsinophilen Körper haben aber keine regelmäßige Form, Größe, Anordnung und Zahl und sind anders als jene Körper, die bei der echten Sporulation dieses Bazillus sichtbar werden. Die Blähformen lassen sich auch mit einfachen Anilinfarben oder mit der Gram-Färbung gleichmäßig färben. Ihre Gram-Festigkeit ist so stark, daß man noch gramfeste Blähformen sehen kann, wenn die vegetativen Formen durch starke Entfärbung oder Nachfärbung ganz gramnegativ geworden sind. Mit Lugolscher Lösung kann man keine Granulose in den Blähformen nachweisen, auch ist mit solcher Färbung wie beim Sporoidkörper (Růžička) nichts zu sehen. Aber fast immer kann man mit Möllerscher Sporenfärbung säurefeste Substanz im Bazillenleib wahrnehmen, wenn die Entfärbung mit 5-proz. Schwefelsäure

mäßig ausgeführt wird. Diese säurefeste Substanz nimmt bald nur einen Teil oder den ganzen Teil der Bazillen ein und färbt sich gleichmäßig oder fleckig. Ihre Gestalt ist unregelmäßig und unscharf. Nur selten ist die Grenze dieser säurefesten Substanz scharf und die Säurefestigkeit stark. Dann erwecken sie den Eindruck von Sporen in einer Zahl von 1—4 und können auch damit verwechselt werden. Allerdings können auch echte Sporen bei Blähformen vorkommen, besonders bei Schaufelformen.

2) Vorkommen. Man sieht diese Form selten bei der Kultur auf Traubenzuckeragar (Stichkultur), gewöhnlichem Agar (Stichkultur), Kartoffel-, Hirn-, Muskel- und einigen Fischnährböden, etwas öfter auf Plattenkulturen von gewöhnlichem Agar und Traubenzuckeragar, am meisten auf Glyzerinagar (2—5 Proz.), Knorr-Heimschem Nährboden und Pfeilkrautknollennährboden. Wenn sie auch schon in 24-stünd. Kulturen bei 37° C vorkommen, so kann man doch mehr Blähformen nach 2tägiger Bebrütung beobachten. Auf Pfeilkrautknollennährboden und Traubenzuckeragarplatten habe ich gesehen, daß diese Formen noch unverändert vorhanden waren, wenn die vegetativen Formen schon entartet waren. Die Bildung der Blähformen wird in der Regel von Sporenbildung begleitet. Deshalb sind sie am meisten unter solchen Bedingungen zu beobachten, unter denen die Sporenbildung üppig vor sich geht, aber es gibt auch seltene Fälle, in denen nur Sporenbildung oder Blähformenbildung vorhanden ist.

3) Bedeutung.

Wenn die Bazillenkultur lange Zeit nicht verimpft wird, oder im unpassenden Nährboden oder bei ungünstiger Temperatur gezüchtet wird, so bilden sich im allgemeinen Degenerationsformen, d. h. einzelne Bazillen blähen sich auf, nehmen ungestaltete Formen an und ihr Protoplasma wird körnig, enthält Vakuolen und färbt sich ungleichmäßig, schwer oder gar nicht. Sie vermehren sich nicht mehr und gehen zugrunde (Involutionsformen, Entartungsformen). Die Blähformen bei unserem Bazillus kommen dagegen auf Nährböden zustande, deren Reaktion und Bestandteile für sein Wachstum besonders zweckmäßig sind. Sie erscheinen im früheren Stadium der Kultur, bilden keine Vakuolen oder Granula, obzwar sie ungestaltetes Aussehen haben, färben sich stark und enthalten mehr Chromatin als normale vegetative Formen. Es gibt natürlich bei dieser Form auch Entartungsformen, aber diese kommen erst viel später als die normalen vegetativen Formen vor. Aus obigen Ausführungen ist zu entnehmen, daß die Blähformen unseres Bazillus nach dem Zeitpunkt ihres Vorkommens, nach den Entstehungsbedingungen, nach ihrer Gestalt und ihrem färberischen Verhalten sich ganz anders darstellen als die gewöhnliche Entartungsform und in diesen Punkten viel mehr mit den Blähformen Aehnlichkeit haben, die Preisz, Růžička beim Milzbrandbazillus, Ambrož beim B. nitri sp. n. und Graßberger und Schattenfroh, Ghon-Sachs, v. Hibler etc. bei Anaërobiern gesehen haben. Sie sind ihnen außerdem nach folgenden Tatsachen auch in bezug auf ihr Verhältnis zur Sporenbildung und zum Einschlußkörper ähnlich. — A. Verhältnis zwischen Blähformen und Sporenbildung. a) Bei unserem Bazillus. Die Blähformen von unserem Bazillus enthalten manchmal in ihrem Körper einen matten Fleck oder einen sporenanlageähnlichen ovalen Körper. Sie enthalten sogar manchmal echte Sporen. Ihr Leib ist groß und stark

grampositiv wie beim sporenbildenden oder -tragenden Individuum unseres Bazillus. In ihrem Körper befindet sich im allgemeinen säurefeste Substanz. In verdünnter wässeriger Fuchsinlösung (Preisz) erscheint stark fuchsinophile Substanz wie bei der Sporenbildung, von der Preisz geschrieben hat. Außerdem entstehen sie bei guten Wachstumsbedingungen und zu demselben Zeitpunkte, in dem Sporen gebildet werden. Daraus ist also eine innige Beziehung der Blähform unseres Bazillus zur Sporenbildung zu ersehen. — b) Beim Milzbrandbazillus. Růžička beobachtete, daß sich der Milzbrandbazillus auf 7-proz. Glyzerinagar besser entwickelt als auf gewöhnlichem Agar und die hypertrophische Form dabei häufiger und im früheren Stadium der Kultur vorkommt. Er erklärt das so, daß der Bazillus auf Glyzerinagar, der ihm einen üppigen Ernährungszustand gibt, durch starke Assimilation viel Chromatin speichert und hypertrophische Formen entstehen läßt, indem er gleichzeitig die Teilungsfähigkeit verringert. Und er nimmt weiter an, daß der Sporoidkörper, der in dieser hypertrophischen Form sich befindet, aus Chromatin gebildet wird. In dieser Beziehung ist die Bildung der Sporoidkörper derjenigen der Sporen ähnlich. Außerdem wird nach seinen Untersuchungen der Sporoidkörper wie die Spore durch künstlichen Magensaft nicht verdaut und durch Franz-Schwarzsche Reagentien nicht beeinflußt. Nur sein Verhalten zur Säurefestigkeit ist anders. Preisz hat beim Milzbrandbazillus auch die Beziehung zwischen Sporen- und Blähformbildung erkannt. Er sagt, daß die Blähformen besonders bei langsamer Sporenbildung erscheinen und in ihrem Körper säurefeste Substanz haben. — c) Beim B. nitri sp. n. Ambrož hat bei diesem Bazillus, der auf Kartoffeln, gewöhnlichem oder Traubenzuckeragar gezüchtet wurde, Blähformen und Sporoidkörper gesehen. Er ist über die Bildung solcher Körper derselben Meinung wie Růžička. — d) Bei Anaërobiern. v. Hibler hat die Blähformen der Anaërobier besonders genau untersucht und bemerkt, daß diese Formen bei der 1. Gruppe seiner Anaërobier, d. h. bei denjenigen Bazillen, die koaguliertes Serum sowie Milch nicht peptonisieren und Hirnbreinährboden nicht schwärzen, häufig vorkommen; es gibt zwei Arten, von denen die eine Granulose, die andere keine enthält. Die Blähformen kommen im frühen Stadium der Entwicklung zustande. v. Hibler hat aber nichts zur Klärung der Bedeutung dieser Formen beigetragen. Nur M. Müller hat beim Rauschbrandbazillus die Erklärung gegeben, daß die Blähform eine Uebergangsform zur Spore sei. Andererseits hat sie Werdt als Degenerationsform und Graßberger und Schattenfroh als Zeichen von Zuckerkrankheit aufgefaßt. Foth sagt, daß die Blähform des Rauschbrandbazillus mit Granulose früher als die Sporenbildung erscheint und mit der Sporenbildung verschwindet. Nach alledem kann man annehmen, daß die Bildung der Blähform dieser obengenannten Bazillen enge Beziehungen zur Sporenbildung hat. — B. Verhältnis zwischen Einschlußkörper und Sporenbildung. a) säurefeste Substanz. Bunge hat zuerst die säurefeste Substanz (Bungesche Körperchen) im Milzbrandbazillus bemerkt und meinte, daß aus dieser Substanz nachher eine Spore gebildet wird. A. Meyer, Grimme, Gottheil, Ellis, Preiß und Eisenberg haben aus ihrer Gestalt, ihrem Lichtbrechungsvermögen, der Resistenz gegen chemische Reagentien und dem Verhalten zu fettfärbenden Farbstoffen geschlossen, daß diese Körper aus Fett bestehen. Aber es wird vermutet,

daß die Säurefestigkeit des Bazillus in chemischer Hinsicht sowohl von der fettwachsartigen Substanz wie auch von dem Eiweißkörper und der Zellulose, in physiologischer Hinsicht aber von der besonderen Dichtigkeit der Struktur herrührt (Auclaire und Paris, Pappenheim). Daher ist denkbar, daß die Säurefestigkeit der Bungeschen Körperchen wenigstens teilweise von der Dichtigkeit des Eiweißkörpers des Bazillenleibes herrührt[1]). Und weiter ist anzunehmen, daß die Säurefestigkeit der Einschlußkörper unseres Bazillus auch vom Eiweiß herrührt, weil außer oben erwähntem sein Einschlußkörper keine Fettreaktion zeigt und die Kontur desselben unscharf und nicht kugelig ist. Deshalb kann man auch weiter annehmen, daß dieser Körper, wie das Bungesche Körperchen, in Beziehung zur Sporenbildung steht und eine unvollkommene Verdichtung des Chromatins darstellt. In der Tat wird diese Vermutung noch wahrscheinlicher, wenn man sich an das oben erwähnte Verhältnis zwischen Blähformen- und Sporenbildung bei unserem Bazillus erinnert. Außerdem können echte Sporen bei Blähformen unnseres Bazillus vorkommen, wenn die Verdichtung des Chromatins vollkommen ist. — b) Granulose. v. Hibler glaubte, daß die Granulose der Anaërobier vom Kohlehydrat im Nährboden abstammt und diese Substanz besonders häufig vorkommt, wenn die Bazillen seiner ersten Gruppe im alkalischen und kohlehydrathaltigen Nährboden wachsen, der das Wachstum der Bakterien begünstigt; die Granulose wird dann bei der Sporenbildung verbraucht. — c) Sporoidkörper. Diese Körper wurden von Růžička, Eisenberg, Wauschkuhn (beim Milzbrandbazillus) und von Ambrož (beim B. nitri sp. n.) gefunden, und es wird angenommen, daß sie zur Sporenbildung in Beziehung stehen. Die Sporoidkörper sind nach Růžička und Ambrož ein Eiweißkörper und nach Eisenberg Fettkörper. Ambrož hat den Befund von Eisenberg allerdings kritisiert und betont, daß ohne chemische Untersuchung der Fettcharakter dieses Körpers nicht zu entscheiden ist. Er meint gegenüber Eisenberg, daß die Sporoidkörper nicht aus Fettsubstanz bestehen können, weil sie in heißem Aether oder in alkalischer Kalilösung nicht gelöst werden. — d) Säurefeste Substanz in hypertrophischer Form von Milzbrandbazillus. Růžička behauptet, daß die säurefeste Substanz der hypertrophischen Form in der sekundären Kolonie des Milzbrandbazillus, die Preisz gesehen und für eine größere Form der Bungeschen Körperchen gehalten hat, Jugendform des Sporoidkörpers sei, weil die sekundäre Kolonie des Milzbrandbazillus nur bei üppigem Wachstum des Bazillus vorkommt, die säurefeste Substanz später ihre Säurefestigkeit verliert und die Sporoidkörper ebenfalls manchmal säurefest sind. Außerdem glaube ich auf Grund des Befundes von Preisz, daß die Krompecherschen Körperchen (Entogranula Růžička) säurefest sind und daß die große säurefeste Substanz der hypertrophischen Form in der sekundären Kolonie des Milzbrandbazillus (Preisz) Beziehung zur Spore hat und diese Substanz wahrscheinlich dann vorkommt, wenn das Krompechersche Körperchen (Krompecher, Preisz) abnorme Sporenbildung eingeht. Aus dem oben Erwähnten ist ersichtlich, daß das Bungesche Körperchen und die Granulose bei der

1) Bekanntlich hat auch schon Eisenberg die Vermutung geäußert, daß die Säurefestigkeit bei den Krompecherschen Körperchen auf dem Eiweißgehalt beruht.

Sporenbildung verbraucht werden und die anderen Einschlußkörperarten auch Beziehung zur Sporenbildung haben. Infolgedessen haben diese 5 Einschlußkörper Beziehungen untereinander und zur Sporenbildung.

Nun ist es klar, daß die Blähformen von Růžička, Ambrož, Preisz, v. Hibler und Verf. bei demselben Entwicklungsstadium und auf günstigem Nährboden vorkommen, gleicherweise ungestaltete Form und Beziehung zur Sporenbildung haben und die Substanz speichern, die auch zur Sporenbildung Beziehung hat. Aus diesen Gründen sind die oben erwähnten Blähformarten wahrscheinlich von gleicher Natur und stellen eine pathologische Form bei abnormer Sporenbildung dar.

Zusammenfassung der wichtigen Ergebnisse.

1) Bei einer Nahrungsmittelvergiftung durch Sardinenkonserven wurde von mir aus dem Inhalt einer Konservenbüchse ein sauerstoffscheuer Bazillus gezüchtet, dessen genauere Untersuchung aber keine Anhaltspunkte dafür ergab, daß es sich um einen menschen- oder tierpathogenen Krankheitserreger handelt. Der Bazillus läßt sich von den zum Vergleich herangezogenen Vertretern der Putrificus-Gruppe abgrenzen und ist als eine neue Art von anaëroben Fäulnisbazillen zu bezeichnen. — 2) Die Untersuchungen dieses Bazillus ergab indes bezüglich der allgemeinen Morphologie und Biologie der Bakterien einige interessante Befunde und lieferte einen Beitrag zur Artbestimmung und Differentialdiagnose der anaëroben Fäulnisbazillen und zur Technik der Anaërobenuntersuchung. — 3) Die Form der tiefen Kolonie ist unter den gewöhnlichen Bedingungen der Züchtung zerschlissen und die der oberflächlichen Kolonie immer geschlossen. Die Konstanz dieser Kolonieformen kann man differentialdiagnostisch verwerten. Erwärmung des Impfmaterials, Menge der Einsaat, Bestandteile und Reaktion des Nährmediums, Sauerstoffspannung und Alter des Impfmaterials kann dagegen im Hochschichtagar die Form der Kolonie beeinflussen. Andererseits hatte die Häufigkeit der Umzüchtung und die Art des Nährbodens keinen Einfluß auf die Form der Kolonie. — 4) Außer den von anderen Autoren als formbestimmend bei der Koloniebildung angeführten Ursachen (Plastizität der Bakterienleiber, ihre Beweglichkeit und die Produktion von Stoffwechselprodukten) scheint mir auch die Klebrigkeit der Bazillenmembran dabei von ursächlicher Bedeutung zu sein. — 5) Der Bazillus bildet unter bestimmten Bedingungen reichlich Blähformen. Diese Bedingungen wurden genau untersucht, wobei sich ergab, daß die Blähformen keine Degenerations- oder Entartungsformen darstellen. Sie enthalten auch nicht Granulose, wie die von Hibler untersuchten und beschriebenen Blähformen der Anaërobier, dagegen läßt sich darin säurefeste Substanz nachweisen. Ich halte sie für abnorme Formen einer anormalen Sporenbildung. — 6) Die Fäulnisgärung verläuft bei den Reinkulturen des Bazillus ohne

Indolbildung. — 7) Die Immunitätsreaktionen lassen auf eine gewisse Verwandtschaft meines Bazillus mit den zum Vergleich herangezogenen Putrificus-Stämmen schließen.

Hauptliteratur.

1) Ambrož, A., Entwicklungszyklus des Bacillus nitri sp. n. als Beitrag zur Cytologie der Bakterien. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Bd. 51. 1909. S. 193.) — 2) Bienstock, B., Untersuchungen über die Aetiologie der Eiweißfäulnis. (Arch. f. Hyg. Bd. 36. 1899. S. 335; Bd. 39. 1901. S. 390.) — 3) Ders., Bacillus putrificus. (Ann. Inst. Pasteur T. 20. 1906. p. 407.) — 4) Esty, J. R., and Meyer, K. F., The heat resistance of spores of B. botulinus and allied anaërobes. (Journ. Inf. Dis. Vol. 31. 1922. p. 651.) — 5) Gaethgens, W., Vergleichende Untersuchungen über die Erreger des Gasbrandes und des malignen Oedems. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 80. 1917. S. 166.) — 6) Graßberger und Schattenfroh, Ueber Buttersäuregärung. (Arch. f. Hyg. Bd. 60. 1907. S. 40.) — 7) Hall, J. C., Differentiation and identification of the sporulating anaërobes. (Journ. Inf. Dis. Vol. 30. 1922. p. 445.) — 8) Hall, J. C., and Stark, N., Serologic agglutination of Bacillus sporogenes. (Ibid. Vol. 33. 1923. p. 240.) — 9) Heller H. H., The study of colony formation in deep agar. (Ibid. Vol. 30. 1922. p. 1.) — 10) v. Hibler, E., Untersuchungen über die pathogenen Anaërobier. Jena 1908. — 11) Klein, E., Ein Beitrag zur Bakteriologie der Leichenverwesung. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Bd. 25. 1899. S. 278.) — 12) Kruse, W. Allgemeine Mikrobiologie. 1910. — 13) Manteufel, P., Ueber anaërobe Züchtung. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 89. 1922. S. 248.) — 14) Medical Research Committee, The classification and study of the anaërobic bacteria of war wounds. London. (H. M. Station. Office. 1917.) — 15) Medical Research Committee, Reports of the Committee upon anaërobic bacteria and infections. London. (H. M. Station. Office. 1919.) — 16) Metchnikoff, E., Etudes sur la flore intestinale. (Ann. Inst. Pasteur. T. 22. 1908. p. 929.) — 17) Obst, M. M., A bacteriologic study of sardines. (Journ. Inf. Dis. Vol. 24. 1917. p. 158.) — 18) Preisz, H., Studien über Morphologie und Biologie des Milzbrandbazillus. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 35. 1904. S. 280, 416, 537 u. 657.) — 19) Randall and Hall, The use of B. Welchii and the preparation of sugar-free cultur medium. (Journ. Inf. Dis. Vol. 29. 1921. p. 344.) — 20) Růžčka, Vlad., Sporenbildung und andere biologische Vorgänge bei den B. anthracis. (Arch. f. Hyg. Bd. 64. 1908. p. 219; Arch. f. Protistenk. Bd. 10. 1907. S. 247.) — 21) Starin, W. A., and Dack, G. M., Agglutination studies of Clostridium botulinum. (Journ. Inf. Dis. Vol. 33. 1923. p. 169.) — 22) Weinberg et Séguin, La gangrène gazeuse. Paris (Masson) 1918. — 23) Zeißler, J., Die Technik der Anaërobenzüchtung. (Handb. d. mikrobiolog. Techn. Bd. 2. 1923. S. 961.)

Nachdruck verboten.

Zur Artbestimmung der Putrificus-Bazillen.

[Aus der Bakteriologischen Abteilung (Serologisches Laboratorium des Reichsgesundheitsamts.]

Von Prof. **K. Kimura**, Tokio.

Untersuchungsmaterial. Die vorliegenden Untersuchungen beziehen sich auf 6 Stämme von sauerstoffscheuen Fäulnisbazillen verschiedener Herkunft: 1) B. putrificus Bienstock 1884, 2) B. putrificus verrucosus Zeißler 1921, 3) B. „Uhrzeiger" Pfeiffer und

Bessau 1917[1]), 4) B. „Buri"; von mir 1918 im Kaiserl. Fischereiinstitut zu Tokio aus einer in Japan hergestellten 2pfündigen Fischkonserve gezüchtet. Die Konservenbüchse war bombiert und zeigte bei der Oeffnung einen fauligen Geruch. Buri ist die japanische Bezeichnung für die Thunfischart Seriola aurevittata. — 5) B. „Lachs"; von mir 1919 im Kaiserl. Fischereiinstitut zu Tokio aus einer in Kamtschatka hergestellten 1pfündigen Konserve von gekochtem Rotlachs (Oncorhynchus verka) gezüchtet. Die Konserve war nicht bombiert und verbreitete beim Oeffnen keinen fauligen Geruch. — 6) B. „Rind"; 1922 von mir in der bakteriologischen Abteilung des Reichsgesundheitsamts aus einer 2pfündigen Konserve von amerikanischem Büchsenfleisch gezüchtet. Die Dose war bombiert und hatte einen faulig riechenden Inhalt.

Untersuchungstechnik. Zwecks Gewinnung von Reinkulturen aus Rohmaterial und als Ausgangsmaterial für die Beimpfung von Platten und Differentialnährböden bediente ich mich der von Manteufel (1) empfohlenen Modifikation des Trenkmannschen Verfahrens. Die für die üblichen bakteriologischen Zwecke im Gebrauch befindliche alkalische Peptonnährbrühe wird danach in der gewünschten Weise beimpft, alsdann fügt man auf etwa 10 ccm Kulturflüssigkeit 0,5 ccm einer 0,5proz. (am besten frischbereiteten) Lösung von Natriumsulfid in sterilem destill. Wasser hinzu und überschichtet mit einer kleinen Menge durch Erwärmen verflüssigter, weißer (gereinigter) Vaseline. Will man nach eingetretenem Wachstum aus einer solchen Kultur Material entnehmen, dann erwärmt man das Röhrchen an der kleinen Flamme des Bunsenbrenners in der Höhe des „Vaselinesiegels" bis zur Verflüssigung und saugt mittels eingeführter Kapillare die benötigte Menge ab.

Für feste Nährböden eignet sich nach meinen Erfahrungen auch bei der Züchtung der hier besprochenen saprophytischen Keime Gelatine weniger gut als Agar, weil das Wachstum bei 37° unverhältnismäßig besser und regelmäßiger vor sich geht. Somit ist der Agar die gegebene Grundlage für Plattenkulturen. Gewöhnlicher Nähragar ist zwar ein leidlich brauchbarer Nährboden, jedoch wird das Wachstum durch Zusatz von Blut oder Serum bedeutend verbessert. Ein Ersatz des frischen Blutes oder Blutserums durch Nutrose hat sich mir dagegen nicht bewährt. In neuerer Zeit hat besonders Zeißler (2) auf die Vorteile der Verwendung von Blutagar zur Anaërobenzüchtung hingewiesen. Zeißler betont vor allem den Wert der Traubenzuckerblutagarplatte (etwa 20 Proz. Blut und 2 Proz. Traubenzucker) für die Differentialdiagnose der Anaërobier, weil sich auf diesem Nährboden mehr artcharakteristische Wuchsformen erkennen lassen als auf irgendeinem anderen Nährboden. Auf die Bedeutung der verschiedenen Wuchsformen für die Artunterscheidung wird später noch zurückzukommen sein. Daneben kommt aber m. E. dem frischen Blut ähnlich wie frischem Organgewebe eine das Wachstum luftscheuer Keime an sich befördernde Eigenschaft zu, die auch bei den Anaërobiern saprophytischen Charakters, wie den Putrificus-Bazillen, deutlich in die Erscheinung tritt, und in gewissem Grade auch dem von Blutzellen befreiten Serum anhaftet. Diese Wachstumsbegünstigung des Serumagars gegenüber dem gewöhnlichen Agar machte sich bei meinen Stämmen deutlicher bemerkbar, als der Unterschied zwischen Traubenzuckeragar und gewöhnlichem Nähragar.

Bekanntlich wird der Zusatz von Traubenzucker zu Anaërobennährböden hauptsächlich wegen seiner reduzierenden Eigenschaften empfohlen. Zeißler setzt seinem Blutagar 2 Proz. Traubenzucker hinzu. Da ich bei meiner Technik keine wesentlichen Unterschiede zwischen 2proz. und $^1/_2$proz. Zusätzen von Traubenzucker gesehen habe, wurde schließlich in der Regel zur Anlage von Oberflächenausstrichen aus ökonomischen Gründen und im Hinblick auf eine mögliche Schädigung der Anaërobierkulturen durch starke Säurebildung in Traubenzucker [Th. Smith (3)

1) Die Kultur zu 3) wurde von Herrn Geheimrat Pfeiffer in Breslau, die unter 1) und 2) genannten von Herrn Dr. Zeißler in Altona gütigst zur Verfügung gestellt, wofür ich an dieser Stelle meinen ganz besonderen Dank ausspreche. Eine ebenfalls von Herrn Zeißler überlassene Kultur des B. putrificus tenuis Zeißler 1921 ist wegen ihres unregelmäßigen Wachstums hier nicht berücksichtigt worden.

und andere] ein $^1/_2$proz. Traubenzuckeragar gewählt, dem dann ebenfalls aus Gründen der Vereinfachung statt 20 Proz. frischem Blut etwa 10 Proz. steriles Blutserum zugesetzt wurde. Die technische Erleichterung bei der Verwendung von Blutserum (steril filtriert) an Stelle von Blut ergibt sich daraus, daß man sich das erstere jederzeit zum Gebrauch vorrätig halten kann, während man das Blut für jeden Gebrauchsfall erst entnehmen und den damit versetzten Nährboden vorher erst noch mal auf Sterilität prüfen muß.

Was die große Bedeutung der Reinkultur anlangt und die bedenkliche Fehlerquelle, die gerade beim Arbeiten mit Anaërobiern durch Verwendung unsicherer Reinkulturen als Ausgangsmaterial bedingt ist, so muß man sich den Ausführungen von Zeißler (2) und Hall (4) durchaus anschließen. Diese Fehlerquelle ist 1. durch die manchmal überaus große Widerstandsfähigkeit des Sporenmaterials gegeben, die bei Untersuchungen mit Putrificus-Kulturen besonders zu beachten ist, weil die Sporen öfters auch stundenlanges Kochen im strömenden Dampf vertragen. Dadurch wird unbedingt der Gebrauch des gespannten Dampfes für alle Sterilisationszwecke nötig gemacht. Auf die Hitzeresistenz der Sporen wird weiter unten noch zurückgekommen werden. 2. ist eine Quelle der Unsicherheit bei der Anaërobierzüchtung dadurch geschaffen, daß statt der Gewinnung von Reinkulturen durch das Plattenverfahren häufig das Arbeiten mit Schüttelkulturen im Reagenzglase gebräuchlich ist. Bei der Neigung vieler Anaërobier zu infiltrativem Wachstum und Bildung von Ausläufern ist die Gewinnung von Reinkulturen auf diesem Wege, wie Zeißler mit Recht betont, sehr schwierig und selbst bei der Verwendung von Oberflächenausstrichen auf Platten m. E. nicht immer leicht, weil viele Anaërobier beim Oberflächenwachstum zu proteusähnähnlicher Schleierbildung neigen, die man oft nur bei genauester Lupenbetrachtung erkennen kann. Tatsache ist jedenfalls, daß man jeder nicht genau auf Reinheit geprüften Laboratoriumskultur eines Anaërobiers mit Mißtrauen begegnen und sich auch im Verlaufe von Untersuchungen mit gründlich auf Reinheit geprüften Stämmen immer wieder davon überzeugen muß, ob die Reinheit nicht wieder verloren gegangen ist.

Zur Herstellung der für das Wachstum obligater Anaërobier nötigen herabgesetzten Sauerstoffspannung empfiehlt Zeißler (2) den Massenschen Apparat, der mittels Wasserstrahl- oder Oelpumpe $^1/_4$ bis $^1/_2$ Std. ausgepumpt und dann der Sauerstoffabsorption von alkalischer Pyrogallussäure ausgesetzt wird, und zwar sei für eine einmalige Beschickung 6 g Pyrogallol und 100 ccm 50proz. Kalilauge notwendig, um die besten Bedingungen herauszuholen. Da 6 g Pyrogallol gegenwärtig für wissenschaftliche Institute eine große Ausgabe darstellen, habe ich bei meinen Untersuchungen ein von Manteufel (5) angegebenes billigeres Verfahren benutzt, das im großen und ganzen eine Verbilligung der Lentzschen Pyrogallolfilzmethode darstellt. Man stellt sich aus Löschpapier Streifen von etwa 30 cm Länge und 5 cm Breite her, die zu Rechtecken von 5mal 2—3 cm zusammengefaltet und durch Heftzwirn oder Heftklammern aus Draht so zusammengehalten werden, daß sich die Ränder nicht auseinanderbiegen können. Alsdann legt man diese mehrfache Löschpapierlage auf eine Glasplatte, deren Durchmesser größer als der einer Petri-Schale sein muß, und befestigt sie darauf mittels verflüssigtem Hartparaffin. Man kann als Glasplatte beispielsweise eine gebrauchte photographische Platte, eine sog. Drigalski-Schale oder auch die Außenseite eines Petri-Schalendeckels benutzen. Die mit $^1/_2$proz. Traubenzucker-, Blut- oder Serumagar beschickten Platten werden über Chlorkalzium 1 bis 2 Std. scharf getrocknet — Zeißler empfiehlt sogar, die Blutplatten vor der Beimpfung 2 Tage lang bei Zimmertemperatur abtrocknen zu lassen — und dann mit Oese oder Spatel in der gewünschten Weise beimpft. Sobald die Aussaat erfolgt ist, tränkt man die Löschpapierlage mit 0,5 ccm 50proz. Kalilauge und fügt schließlich 0,25 ccm einer 40proz. Pyrogallollösung (0,1 g Pyrogallol in 0,25 Wasser gelöst) hinzu. Die beimpfte Platte wird nunmehr darüber gestülpt sowie mittels eines Plastilinringes befestigt und abgedichtet. Auf diese Weise hat man nun handliche Einzelplatten zur Verfügung, die jederzeit beliebig in auffallendem und durchfallendem Lichte, ohne den anaëroben Zustand unterbrechen zu müssen, beobachtet und kontrolliert werden können. Wenn man sich in besonderen Fällen über den Zeitpunkt und den Grad der Sauerstoffabsorption vergewissern will, legt man neben die Löschpapierlage noch ein Mulläppchen mit dem van Riemsdiejkschen Methylenblauindikator (7), der sich mit zunehmender Sauerstoffabsorption mehr und mehr entfärbt und bei Abwesenheit von O ganz farblos wird, um bei der Oeffnung der Platte wieder seine ursprüngliche blaue Farbe wiederzugewinnen. Die Oberflächenkulturen sind gewöhnlich erst nach 2—3 Tagen so völlig entwickelt, daß die Einzelkolonien weiterverarbeitet

werden können. Da auch fakultative Anaërobier unter diesen anaëroben Bedingungen mehr oder weniger gut zur Entwicklung kommen können, kann man im Verdachtsfalle vor der Verarbeitung die anaërob gewachsenen Platten zunächst über Nacht aërob weiter bebrüten lassen, um das Heranwachsen von Aërobiern und fakultativen Anaërobiern zu erkennen. Man sucht sich dann mittels Lupe eine sichere Einzelkolonie aus, die mit benachbarten Kolonien noch nicht durch Schleierbildung zusammenhängt, und verimpft auf anaërobe und aërobe Nährbrühe. Die Aufbewahrung von Stammkulturen für weitere Zwecke ist m. E. in Form der Natriumsulfid-Fleischbrühe unter einem Vaselinesiegel einfacher als in Form der üblichen Stich- oder Schüttelkultur in Agar, da bei dieser die Abimpfung schwierig sein kann. Zeißler hat auf diesen Punkt bereits hingewiesen; er verwahrt seine Stammkulturen in Blutbouillon ohne Luftabschluß.

Was die Untersuchung der morphologischen Eigenschaften meiner 6 Stämme anlangt, so gibt die Zusammenstellung I darüber hinreichende Auskunft.

Tabelle I.

	Morphologische Eigenschaften					
	Vegetative Formen			Dauerformen		
	Gestalt	Beweglichkeit	Gramfärbung*)	Lage der Sporen	Formen der Sporen	Widerstandsfähigkeit (100°) gegen Kochhitze
						Wachstum
Putr. Bienstock	polymorph.	Bewegl. +	+ —	polständ.	oval	> 5 Std. (n. 5 Tagen)
Putr. verrucosus	„	„ +	+ —	„	„	> 5½ „ (n. 5 Tagen)
Bac. „Buri“	„	„ +	+ —	„	„	> 5½ „ (n. 2 Tagen)
Bac. „Lachs“	„	„ +	+ —	„	„	> 5½ „ (n. 2 Tagen)
Bac. „Rind“	„	„ +	+ —	„	„	> 5½ „ (n. 1 Tag)
Bac. „Uhrzeiger“	„	„ +	+ —	„	„	< 2 Stunden

*) **Bemerkung: Das Zeichen + — bedeutet nach der Bezeichnungsweise von Zeißler grampositiv bis gramlabil.**

Im einzelnen ist zu dieser Tabelle noch folgendes zu bemerken:

Die morphologischen Beobachtungen wurden in der Regel an Fleischbrühekulturen mit Natriumsulfidzusatz und Vaselinesiegel angestellt. Irgendwelche konstante Unterschiede bezüglich Gestalt, Lagerung und Kettenbildung bei den Zellen der Stämme ließ der Formenreichtum nicht feststellen. Es handelt sich in jungen Kulturen meist um schlankere, oft aber auch kurze und plumpere Stäbchen, die mitunter zu Fäden und Ketten auswachsen und frühzeitig zu versporen beginnen. Beweglichkeit war überall im einfachen hängenden Tropfen ohne weitere anaërobe Vorsichtsmaßregeln zu beobachten. Das Verhalten zur Gramfärbung ist in allen Fällen nach der Bezeichnungsweise von Zeißler als grampositiv bis gramlabil zu nennen, was bedeuten soll, daß sich in jungen Kulturen die überwiegende Anzahl der Stäbchen grampositiv färbt.

In Bezug auf die Dauerformen ist bei allen Stämmen eine polständige Lage der Sporen unter Auftreibung des Bazillenleibes einwandfrei festzustellen, d. h. die Form der Versporung, die man als Plectridium benennt. Man hat als Vergleichsobjekt für das Aussehen dieser Sporenformen gewöhnlich Stecknadel, Trommelschlägel oder Tennisschläger gewählt, während Pfeiffer und Bessau (8) den Vergleich mit dem Uhrzeiger ziehen, Clostridium-Formen als Normaltypus habe ich wenigstens bei den

untersuchten Stämmen weder in Fleischbrühe noch in koaguliertem Rinderserum, wo sehr reichlich Sporenbildung stattfindet, gesehen. Man begegnet auch in dieser Frage in der Literatur den verschiedensten Ansichten und teilweise auch der Meinung, daß die Lage der Sporen jedenfalls nichts Beständiges und Artkennzeichnendes sei [Casper (9), v. Hibler (10), Kruse (11)]. Weniger sicher war bei meinen Stämmen die Frage zu beantworten, ob die Sporen oval oder rund sind. Ich möchte sie in Uebereinstimmung mit Heim (12) als oval bezeichnen, setze mich aber damit in Gegensatz zu v. Hibler und Hall, die die Sporen von Tetanus und Putrificus rund oder fast rund sahen. Hall (4) mißt dieser Frage in einem neuerdings aufgestellten Anaërobenschlüssel eine systematische Bedeutung bei, indem er die Gruppe der Trommelschlägerbazillen in 2 Untergruppen mit runden und ovalen Sporen zerlegt. Kruse steht allerdings auf dem Standpunkte, daß alle Versuche, die Form und Lage der Sporen zu einer Grundlage für systematische Differenzierungen zu machen, Versuche, die bereits von de Bary, Hüppe und Fischer unternommen wurden, durch die Untersuchungen v. Hiblers über die Unbeständigkeit dieser Eigenschaft auf verschiedenen Nährböden als erledigt anzusehen seien. Die amerikanischen Autoren machen neuerdings auch einen grundsätzlichen Unterschied zwischen terminaler und subterminaler Lage der Sporen. Die Widerstandsfähigkeit der Sporen gegen Siedehitze ist bei allen untersuchten Stämmen recht hoch und überstieg bei meinen Versuchen meist 5 Std. Dieses Ergebnis steht im Einklang mit den Angaben von Zeißler (2) und Becker (18), die in engen Hirnbreiröhrchen ebenfalls hohe Sporenresistenz feststellten, dagegen im Widerspruch mit den Untersuchungen von Würcker [zit. nach Heim (12), S. 199], bei dem 40 Min. Aufenthalt im siedenden Wasserbad völlig zur Abtötung ausreichten. Die Versuchsanordnung bei der Prüfung auf Hitzebeständigkeit gestaltete sich folgendermaßen:

Nachdem durch mikroskopische Untersuchung der Na_2S-Bouillonkultur festgestellt war, daß reichlich Sporen darin enthalten waren, wurde die infizierte Nährbrühe in engen Glasröhrchen mit ausgezogenen Kapillarenden aufgesogen und eingeschmolzen. Dann wurden die eingeschmolzenen Proben in einem Topf mit Wasser gekocht oder in einem Autoklaven dem gespannten Dampf ausgesetzt. Nach der Erhitzung wurden die Kapillarenden an beiden Seiten mit einer sterilen Pinzette aufgebrochen und in 10 ccm Nährbrühe mit Na_2S-Lösung hineingetan. Sterile Vaseline wurde dazugegossen, und die Bouillon wurde im Thermostat kultiviert.

Aus der Zusammenstellung der Ergebnisse, auf deren Wiedergabe aus redaktionellen Gründen verzichtet wird, ergibt sich, daß die „Bienstock-Kultur" bei 100° nach 5 Std., die anderen Bakterien aber nach $5^1/_2$ Std. noch nicht abgetötet wurden. Ferner wurden die Stämme Bienstock und Verrucosus bei 120° nach 30 Min. abgetötet, während die anderen Arten der obigen Bakterien bei 120° erst nach 60 Min. abgetötet waren. Nur der Uhrzeigerbazillus bildet eine Ausnahme und zeigt geringere Hitzeresistenz. Sammet berichtet demgegenüber, daß bei Oelfischen und sterilisiertem Büchsenlachs, die 20—30 Min. bei 100° C bzw. 1—2 Std. bei 100° C erhitzt wurden, eine Bombage im allgemeinen selten vorkommt. Wie ich früher auch im Kaiserl. Fischereiinstitut in Tokio schon beobachtet hatte, zeigt das Resultat dieser Untersuchungen, daß man sehr starke Erhitzungen vornehmen muß, wenn sich Bakterien aus der Putrificus-Gruppe in den Büchsen befinden. Uebrigens scheint auch nach meinen Er-

fahrungen die Widerstandsfähigkeit der Kulturen gegen Hitze auf dem gleichen Medium nicht unbedingt konstant zu sein, denn bei öfterer Wiederholung des gleichen Versuches findet man häufig Unregelmäßigkeiten, die jedenfalls die Möglichkeit, die Sporenresistenz als streng charakteristisches Merkmal anzusehen und differentialdiagnostisch zu verwerten, in Frage stellen. Man kann derartige Schwankungen besonders bei solchen Kulturen beobachten, deren Artmerkmale in der Kultur eine gewisse Unregelmäßigkeit zeigen, aber ich habe auch bei meiner Kultur des B. putrificus Bienstock Unterschiede in der Sporenresistenz gesehen, die zwischen 2 und 5 Std. Kochhitze schwankten.

Aus diesen Versuchen geht in Uebereinstimmung mit Zeißler hervor, daß man beim Arbeiten mit diesen Anaërobiern mit der üblichen Sterilisation im Dampftopf nicht auskommt. Soll es doch nach L. Heim Bakteriensporen geben, die einer 20stünd. Erhitzung auf 100° widerstehen.

Das kulturelle Verhalten der untersuchten Kulturen ergibt sich aus der folgenden Zusammenstellung (Tabelle II).

Tabelle II.

	Kulturelle Eigenschaften							
	aërobe Nährbrühe	No. 2 S-Nährbrühe	Traubenzuckernährbrühe (Gärröhrchen)	Gelatine	koaguliertes Rinderserum*)	Milch*)	Zeissler-Platte	Tierpathog. Meerschw., Maus
Putr. Bienstock	neg.	+	Gas +	verfl.	P+	K. + P. +	Hämolyse +	keine
Putr. verrucosus	„	+	„ +	„	„	K. + P. +	„ +	„
Bac. „Buri“	„	+	„ +	„	„	K. + P. +	„ +	„
Bac. „Lachs“	„	+	„ +	„	„	K. ± P. +	„ +	„
Bac. „Rind“	„	+	„ ±	„	„	K. + P. +	„ +	„
Bac. „Uhrzeiger“	„	+	„ +	„	„	K. ± P. +	„ +	„

*) Bemerkung: K bedeutet Koagulation, P = Peptonisierung.

Im einzelnen sind dazu folgende Bemerkungen zu machen:

Die Differentialnährböden wurden sämtlich durch 3—4 Kapillartropfen der gewachsenen Natriumsulfidnährbrühekultur beimpft. In dieser findet man schon nach 48 Std. bei reichlicher Trübung zahlreiche Sporen. Ueberall trat im Laufe des Wachstums in alkalischer Nährbrühe mit Natriumsulfid geringe Säuerung und Gasbildung auf. Die Gasbildung läßt sich an diesen anaëroben Kulturröhrchen gut beobachten, da das Vaselinesiegel auch ganz geringe Mengen von Gasen zurückhält und in Form von Blasen feststellen läßt. Weit stärker als in gewöhnlicher Nährbrühe ist die Gasbildung in Traubenzuckerbrühe. Das ist bei allen 6 Stämmen in gleicher Weise der Fall, allerdings mit zeitlichen und quantitativen Unterschieden, auch bei dem Stamm Putrificus Bienstock, der nach der Angabe des Entdeckers Trauben- und Milchzucker nicht angreifen soll. Auch Hall gibt an, daß Putr. den Traubenzucker nicht spaltet. Ich möchte indes die Frage, ob man aus der starken Gasbildung in Traubenzucker auf eine Vergärung des Zuckers schließen darf, mangels eige-

ner genauen Prüfungen offen lassen, da nach neueren Untersuchungen von Hall (15) für den Fall des Tetanusbazillus, der in Traubenzucker ebenfalls Gas bildet (viel stärker als in gewöhnlicher Nährbrühe), festgestellt ist, daß er Traubenzucker nicht vergärt, sondern daß das Gas anderen Ursprungs ist.

Unter aëroben Bedingungen wachsen die sämtlichen Kulturen in gewöhnlicher und in zuckerhaltiger Nährbrühe gar nicht oder nur bei Einsaat sehr großer Mengen oder zusammenhängender Bröckel der Kulturmasse, dagegen ist in diesen Nährböden mit Sicherheit gutes Wachstum zu erzielen, wenn man sog. Gärungsröhrchen (nach Smith oder Durham) verwendet. In diesen Röhrchen beginnt das Wachstum im geschlossenen Schenkel und setzt sich von dort auf den äußeren Schenkel fort.

Die Fäulnisbildung ist ohne weitere anaërobe Maßnahmen in koaguliertem Serum gut zu beobachten. Bei Anlage einer Stichkultur sieht man zunächst, vom Stich ausgehend, eine Aufhellung und im weiteren Verlauf eine Verflüssigung des ursprünglich festen Nährbodens, bei der sich schließlich bräunlich bis schmutzig verfärbte Bröckel am Boden des Röhrchens ablagern. Der Prozeß verläuft unter starker Alkali- und Gestankbildung. Die zur Prüfung auf Fäulnis benutzten Serumnährböden wurden von steril filtriertem (Berkefeld- oder Seitz-Filter) und nach der Filtration durch Abimpfung auf Nährbrühe auf Sterilität geprüftem Rinderserum hergestellt, das mit isotonischer Kochsalzlösung auf das doppelte Quantum aufgefüllt[1]), zu je 2 ccm in Uhlenhuthsche Röhrchen abgefüllt und dann im Dampftopf koaguliert und sterilisiert wurde. Durch die vorausgeschickte Sterilfiltration glaube ich die Möglichkeit der bakteriellen Verunreinigung des Nährbodens mit Sporenmaterial, das aus dem Serum stammt, auf ein erträgliches Maß herabgesetzt und damit die Bedenken von v. Hibler, Gaehtgens (16) und Zeißler gegen die Verwendung von erstarrtem Serum für diese Zwecke beseitigt zu haben. Außer zeitlichen und quantitativen Verschiedenheiten konnte ich auch auf diesen Nährböden keine wesentlichen Unterschiede bei meinen 6 Stämmen finden. Auf die gleichzeitige Verwendung des v. Hiblerschen Hirnbreinährbodens neben koaguliertem Serum für die Prüfung auf Fäulnis habe ich auf Grund der Erfahrungen früherer Untersucher (Hibler, Zeißler) verzichten zu können geglaubt, wobei allerdings betont sei, daß die genannten Autoren dem Hirnbrei den Vorzug vor dem koagulierten Serum geben, während für die Bedingungen meiner Arbeitsstelle die Beschaffung des Serumnährbodens einfacher war.

Parallel mit der Verflüssigung des erstarrten Rinderserums ging bei meinen Kulturen, ebenfalls unter Berücksichtigung zeitlicher Unterschiede, die Gelatineverflüssigung vonstatten. Das Wachstum beginnt bei Stichkulturen ohne weitere anaërobe Maßnahmen in allen Fällen in der Tiefe des Impfstiches, und von dort geht auch die Verflüssigung aus, die dann allmählich nach oben fortschreitet. Das Endergebnis dieser Verflüssigung war bei allen eine stark alkalische Flüssigkeit. Als weiteren

1) Die Verdünnung findet lediglich zwecks Ersparung von Serum statt. In unverdünntem koaguliertem Rinderserum tritt die Fäulnis mindestens ebensogut, wenn nicht besser, auf.

Differentialnährböden habe ich nach dem Vorgange der anderen Autoren sterile Milch benutzt. Diese ist nach Zeißler insofern ein unzuverlässiges Medium, als viele Anaërobier bei Einsaat von geringen Kulturmengen überhaupt nicht auswachsen oder wenigstens bei Verwendung einer in ihrer Lebensenergie geschädigten Kultur nicht alle normalen biologischen Abbauvorgänge erzeugen. Es kann deshalb vorkommen, daß zu verschiedener Zeit von einer Reinkultur aus angelegte Milchröhrchen verschiedene Reaktionen ergeben. Die Milchkultur hat bei der Untersuchung auf Putrificus-Bazillen insofern praktische Bedeutung erlangt, als Bienstock selbst bei dem von ihm gefundenen Bazillus eine Peptonisierung der Milch ohne vorherige Koagulation als artkennzeichnend bezeichnete, während er bei einem anderen von ihm und vorher von Passini (17) im Darminhalt gesunder Menschen gefundenen ähnlichen anaëroben Bazillus nur eine Koagulation der Milch ohne Peptonisierung feststellen konnte. Diese letztere Art will Bienstock (18), obwohl sie sich sonst weder morphologisch noch kulturell von seinem Bazillus unterscheiden, durchaus von dem eigentlichen Putrificus abgetrennt und als eine besondere Art Paraputrificus bezeichnet wissen, die sich vom Putrificus dadurch unterscheidet, daß sie außer dem Eiweiß auch den Milchzucker zerlegt, während Putrificus nur das Eiweiß angreift. Zeißler, der die Putrificus-Gruppe auf Grund der verschiedenen Wuchsformen auf der Traubenzuckerblutagarplatte ebenfalls in mehrere Arten zerlegt, bezeichnet das Verhalten in Milch bei diesen 3 Arten mit „Peptonisierung, vorher eventuell Gerinnung".

Meine eigenen Erfahrungn in dieser Beziehung gehen dahin, daß die im Handel bezogene Milch bei der gegenwärtigen Notlage in Deutschland ein in seiner Zusammensetzung außerordentlich wechselnder Nährboden ist. Eine eiweiß- und fettreiche Milch bietet den Anaërobiern sowohl infolge des Eiweißgehaltes als auch auf Grund der sich beim Stehen in Röhrchen oben absetzenden Rahmschicht ohne weitere Vorsichtsmaßregeln gute anaërobe Bedingungen. Bei einer Handelsmilch von wechselndem und häufig geringem Eiweiß- und Fettgehalt ist das aber anders; infolgedessen habe ich die Milch für den Zweck in der Weise benutzt, daß sogleich nach der Sterilisierung ein Siegel von Vaseline zugesetzt wurde, um einen guten Luftabschluß zu gewährleisten. Auch mit diesem Behelf erhält man zwar keine ganz gleichmäßigen Ergebnisse bei der Wiederholung eines Versuchs, aber man erreicht in der Regel doch so viel, daß die Peptonisierung rascher und regelmäßiger erfolgt, als wenn man die Milch ohne Siegelung verwendet. Jedenfalls war unter diesen Bedingungen bei meinen Stämmen das Endergebnis eine mehr oder weniger ausgesprochene Peptonisierung unter Gestankbildung. Dieser letzten Phase des Prozesses geht fast regelmäßig eine Gerinnung voraus, die aber unter Umständen nur kurze Zeit dauert und bereits am Tage nach der Beimpfung in die Peptonisierung des Koagulums übergeht, so daß sie ganz übersehen werden kann. Auch die Peptonisierung der Milchkultur zeichnet sich nicht immer durch eine ohne weiteres sichtbare völlige Aufhellung des Inhalts aus, sondern manchmal nur durch einen Zerfall des ursprünglich festen Koagulums in kleine Bröckeln. Mithin bin ich der Meinung, daß das Ausbleiben der Gerinnung vor der Peptonisierung oder das Ausbleiben der Peptonisierung nach vorheriger Ge-

rinnung keine Artdifferenz zu bedeuten braucht, sondern auf einem Beobachtungsfehler beruhen kann, und so fasse ich insonderheit die von Bienstock beschriebenen Unterschiede zwischen seinen vermeintlichen Arten Putrificus und Paraputrificus auf.

Das Endergebnis der Milchkulturen war in meinen Fällen bei allen Stämmen eine saure stinkende Flüssigkeit, die bisweilen ganz aufgehellt war und einen bröckligen Bodensatz absetzte, während in anderen die Aufhellung ausblieb, aber doch in jedem Falle das Koagulum in einzelne Teilchen aufgelöst wurde, was man bisweilen erst beim Eingehen mit einer Kapillare unzweideutig feststellen konnte. Gewöhnlich findet eine Gasbildung in diesen mit Vaseline gesiegelten Milchröhrchen erst statt, wenn der Prozeß der Peptonisierung des Koagulums eingesetzt hat; sie bezieht sich also wohl nicht auf Vergärung des Milchzuckers. Anscheinend laufen in der Milch verschiedene Vorgänge der Säureabspaltung und Alkalibildung nebeneinander her, die schließlich zu einer stinkenden Fäulnis bei saurer Reaktion führen, während der Fäulnisprozeß bei den gleichen Kulturen in erstarrtem Rinderserum bekanntlich unter zunehmender Alkalisierung des Mediums verläuft. Jedenfalls ist in Milch und Serum der Fäulnischarakter der 6 Stämme einwandfrei festzustellen im Gegensatz zu Gelatine, bei der das verflüssigte Endprodukt nicht deutlich faul riecht. Ebensowenig wie in Gelatine macht sich bei den Oberflächenkulturen Fäulnisgeruch bemerkbar, auch wenn man dem Agar reichlich Eiweiß in Form von Blut und Serum zusetzt. Diese Plattenkulturen riechen vielmehr lediglich nach aromatischen Säuren.

Man findet auf den oberflächlich beimpften Platten im allgemeinen 2 deutlich unterschiedliche Kolonietypen, einen dem Nährboden aufliegenden flachen mit trockener Oberfläche, der zur Bildung von mehr oder minder zarten Ausläufern, Lappen und proteusartigen Schleiern neigt, und einen in den Nährboden hineinwachsenden, dessen unregelmäßige Gestalt treffend mit einer Asbestflocke verglichen worden ist. Wodurch diese mit zwei verschiedenen Wuchsformen eines Oberflächenausstriches bedingt werden, ist mit Sicherheit schwer zu sagen.

Das Vorherrschen des einen oder anderen Typus auf einer Platte wechselt bei dem gleichen Stamme und ist vielleicht durch mehr oder minder zusagende Sauerstoffbedingungen und durch größere oder geringere Feuchtigkeit der Plattenoberfläche zu beeinflussen. Feuchtigkeit und zusagende Sauerstoffspannung erzeugen mehr den oberflächlichen Typus, während Trockenheit und weniger zusagende Sauerstoffspannung mehr den in die Tiefe wachsenden asbestflockigen Typus begünstigen. Am besten kann man die beiden Typen auf den $^1/_2$proz. Traubenzuckerserumplatten beobachten.

Zeißler empfiehlt auf Grund seiner großen Erfahrungen zur Differenzierung der Wuchsformen die 2proz. Traubenzuckeragarplatte mit 20 Proz. Blutzusatz. Er unterscheidet darauf 7 verschiedene Formen des Anaërobenwachstums, von denen 4 bei den von ihm untersuchten Putrificus-Stämmen zur Beobachtung kamen, und mißt diesen Wuchsformen artspezifische Bedeutung bei. Die für seinen B. putrificus Bienstock (Nr. 1 in meiner Reihe) charakteristische Wuchsform beschreibt der Autor als „rund bis asbestflockig, dunkel-

bläulichgrau bis schmutzigbraun. Keine Hämolyse. Aeltere Kulturplatte erscheint oft wie mit Läusen besetzt".

Der Bacillus putrificus tenuis (hier nicht behandelt) erscheint nach Zeißler auf der Blutagarplatte in 2 verschiedenen Wuchsformen; 1) knopfförmig erhaben, anfangs fraisefarben, später über lehmbraun und grau in oliv- bis resedagrün übergehend. Der Farbenumschlag in grün soll bei der Verwendung geringerer Mengen Pyrogallol zur Sauerstoffabsorption oft ausbleiben und dann erst nachträglich noch eintreten, wenn die anaëroben Platten einige Stunden der Luft ausgesetzt waren. Oder 2) in schleierförmiger Wuchsform mit gefranztem Rand und zartesten arabesken Ausläufern. Farblos, sehr zart, geringe Hämolyse.

Die für den B. putrificus verrucosus (Nr. 2 meiner Reihe) charakteristische Wuchsform bestände in einer zähen bis harten Warze mit feinem, oft nur mikroskopisch erkennbarem Haarkranz. Weiß oder gelb. Kreisförmige, meist eng begrenzte, aber intensive Hämolyse.

Bei der von mir geübten Methodik treten diese Feinheiten auf der Zeißler-Platte nicht so überzeugend in die Erscheinung, wobei allerdings berücksichtigt werden muß, daß mir vor allem nicht die große persönliche Erfahrung Zeißlers zu Gebote stand. Ferner habe ich zur Beobachtung auch kein binokulares Plattenmikroskop benutzt, das der Autor für erforderlich erachtet, sondern nur eine einfache Lupe, und schließlich hat Zeißler die Platten im luftverdünnten Raum unter Unterstützung durch Sauerstoffabsorption mittels Pyrogallol gehalten, während ich nur mit Pyrogallol und ohne Luftpumpe gearbeitet habe.

Man kann nach meiner Ansicht auf der Blutplatte eine Hämolyse und eine Hämodigestion durch die Anaërobenkulturen feststellen. Die erstere erscheint gewöhnlich eher als die letztere, aber die beiden Vorgänge gehen allmählich ineinander über und verdecken sich dann; besonders bei gut gewachsenen Platten ist das der Fall. Deshalb habe ich zur Beobachtung, ob ein Stamm hämolytische Höfe bildet, nicht die ganze Oberfläche beimpft, sondern mit der durch Abimpfung von einer isolierten Kolonie beladenen Platinnadel eine einzige punktförmige Impfung in der Plattenmitte gemacht, wie es Bitter bei der Untersuchung auf Wallbildung bei Paratyphuskulturen empfiehlt.

Bei dieser Art der Impfung wuchsen alle meine Stämme unter Hofbildung, allerdings mit zeitlichen und quantitativen Unterschieden, die aber bei den einzelnen Kulturen auch nicht konstant oder charakteristisch waren. Im Verlaufe dieser Hämolyse nehmen die im Zentrum des Hofes gelegenen Teile der Kultur dabei allmählich eine grünliche Verfärbung des ursprünglich gelbweißen oder gelbbraunen Farbentones an. Artkennzeichnende Unterschiede in dieser Beziehung, wie sie von Zeißler mit seiner Methode auf der Blutplatte gefunden wurden, nämlich keine Hämolyse bei B. Bienstock, starke Hämolyse bei B. verrucosus und Farbenumschlag in grün bei B. tenuis habe ich nicht feststellen können. Eine Hämodigestion kann man bei dieser Punktbeimpfung im allgemeinen erst spät beobachten. Diese tritt dagegen, wie erwähnt, bei Platten mit dichter Bewachsung der Oberfläche meist ein und färbt die anfänglich blutrote Platte schmutzigbraun.

Auch das von Zeißler für den B. verrucosus als artbezeich-

nend angegebene warzenartige Wachstum ist bei meiner Kulturmethode nicht so regelmäßig in die Erscheinung getreten, daß man diese Art dadurch von den anderen unterscheiden könnte.

In gleichem Sinne möchte ich mich bezüglich des auch von mir beobachteten auffällig zarteren Wachstums des B. tenuis äußern. Der geringeren Wachstumsenergie dieses Stammes, die ich auch beim B. „Lachs" in ähnlicher Weise gesehen habe, entspricht ein ähnliches, langsameres und schlechteres Wachstum auf dem an sich wenig günstigen Agar ohne Serumzusatz und in Milch, wo das Wachstum ohne Vaselinesiegel häufig ganz ausbleibt. Es scheint mir aber nicht sicher erwiesen, daß es sich hier um eine spezifische Eigenschaft des B. tenuis handelt, die zur Aufstellung einer besonderen Art berechtigt.

Im großen und ganzen führen mich die vorliegenden Untersuchungen zu dem Schluß, daß die 6 untersuchten Stämme trotz gewisser Differenzen auf Grund ihrer wesentlichen morphologischen und kulturellen Eigenschaften nicht in mehrere verschiedene Arten zerlegt werden können. Gemeinsam ist ihnen die Beweglichkeit in flüssigen und die Grambeständigkeit in jungen Kulturen, die polständige Lage der Sporen, die den Bazillenleib trommelschlägerförmig auftreiben, aber in der Regel keine Clostridienformen bilden und sehr widerstandsfähig gegen Siedehitze sind, schließlich die Aufspaltung des Eiweißes unter Bildung von Fäulnisgeruch. Die Sporen sind nach meiner Ansicht nicht rund, sondern oval, und die Milch wird im allgemeinen vor der Peptonisierung zur Gerinnung gebracht.

Diese Eigenschaften hat die Putrificus-Gruppe mit der Tetanusgruppe gemeinsam.

Da nach den Erfahrungen v. Hiblers, Beckers und Zeißlers die Sporenresistenz gegen Siedehitze beim Tetanusbazillus viel bedeutender ist als auf Grund der früheren Untersuchungen von Kitasato u. a. gemeinhin angegeben wird, bleibt als einziges Unterscheidungsmittel zur Abgrenzung der Putrificus- und Tetanusbazillen lediglich die charakteristische Pathogenität der Tetanusstämme. Wenn diese aber fehlt, was bei Tetanuskulturen auch nach den Erfahrungen v. Hiblers öfter vorkommt, dann ist eine objektive Differenzierung auf Grund der besprochenen Charaktereigenschaften kaum möglich. Meine Stämme habe ich an Meerschweinchen und weißen Mäusen auf Pathogenität geprüft, und zwar alle mit negativem Ergebnis, während ein in gleicher Weise geprüfter Tetanusstamm, der im Marburger Behring-Werk zur Toxingewinnung benutzt wird, bei der gleichen Versuchsanordnung typischen Tetanus erzeugte.

Das Bedürfnis nach einer diagnostischen Immunitätsreaktion zur Identifizierung ist deshalb im Hinblick auf das Vorkommen von apathogenen Tetanusbazillen vorhanden und hat mir trotz der vorliegenden unbefriedigenden Erfahrungen auf diesem Gebiete [Passini, Pfeiffer u. Bessau, Werner (27)] den Anlaß gegeben, einige Versuche darüber zu machen. Leider konnten diese serologischen Untersuchungen aus äußeren Gründen nicht mehr zum Abschluß gebracht werden, so daß ich die Ergebnisse nicht als endgültige bezeichnen kann.

Bei der Herstellung der Immunsera wurde folgendermaßen verfahren:

Es wurden Nährbrühekulturen in großen, etwa 30 ccm fassenden Zentrifugengläsern angelegt, die unter Zusatz von 3 ccm einer $^1/_2$proz. Natriumsulfidlösung ohne Vaselinesiegel aërob bebrütet wurden. Nach 2—3 Tagen wurden die reich-

lich gewachsenen Keime durch scharfes Zentrifugieren ausgeschleudert und durch Abgießen von der Flüssigkeit möglichst vollständig getrennt. Der Bodensatz wurde mit 30 ccm isotonischer Kochsalzlösung gewaschen, zentrifugiert und endlich in einer kleinen Menge isotonischer Kochsalzlösung aufgenommen, die nunmehr zur intravenösen Einspritzung verwandt wurde. Auf diese Weise wurde durch 8malige Behandlung von Kaninchen je ein Antiserum gegen Bazillus Buri und gegen Tetanus Behring (10) gewonnen, die bei der Auswertung im Agglutinationsversuch einen homologen Titer von etwa 5000 ergaben.

Die Ergebnisse der Agglutination mit den übrigen hier in Frage kommenden Stämmen sind in der folgenden Zusammenstellung niedergelegt.

Tabelle III.

	Tetanusserum 697							Buriserum 703						
	100	200	500	1000	2000	5000	10 000	100	200	500	1000	2000	5000	10 000
Tetanus Behringwerk	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	—	—	—
Bienstock	—	—	—	—	—	—	—	+	+	—	—	—	—	—
Tenuis	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
Verrucosus	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
Buri	+	+	+	+	—	—	—	+	+	+	+	+	+	—
Rind	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
Lachs	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
Uhrzeiger	+	+	+	+	—	—	—	+	+	+	—	—	—	—
Tetanus R.G.A.	+	+	+	+	+	+	—	+	+	+	+	—	—	—

Aus dieser Tabelle ergibt sich, daß mittels der Agglutination eine einwandfreie Unterscheidung der beiden benachbarten Anaërobengruppen nicht gelungen ist. Dabei ist an ähnlich unbefriedigende Ergebnisse zu erinnern, die Passini (17) mit einem Putrificus-Immunserum erzielt hat, indem er verwandtschaftliche Beziehungen zwischen Putrificus und Gasbrand dabei erhielt, allerdings nur mit der sog. „mobilen" sporenbildenden Form des Gasbrandbazillus, dessen Gasbrandnatur von späteren Untersuchern sehr in Zweifel gezogen wird.

Auch der Beweis einer Rezeptorengemeinschaft oder näheren Verwandtschaft der hier zusammen untersuchten anaëroben Fäulniserreger hat sich durch die Agglutinationsversuche nicht erbringen lassen. In Uebereinstimmung mit den Befunden von Pfeiffer und Bessau (8) bei einem Uhrzeigerimmunserum mit dem Titer 20000, das eigentlich nur den homologen Stamm nennenswert agglutinierte, war auch in meinem Falle eine serologische Zusammengehörigkeit durch die Agglutination nicht festzustellen. Ich muß indes hinzufügen, daß diese serologischen Versuche der Wiederholung und Erweiterung bedürftig sind.

Die Literatur über Putrificus ist auffällig reich an Widersprüchen und Unklarheiten. Bienstock (19), der den Bazillus 1884 zuerst beschrieb, nannte ihn, obwohl er im Darminhalt nicht auffindbar war, sondern nur im Erdboden, in Jauche und Straßenkot, Putrificus coli, und erkannte anfänglich seine Anaërobennatur nicht. Diese Tatsache wurde erst 1899 von Bienstock in einer weiteren Arbeit richtiggestellt, nachdem inzwischen Klein (20) in London den gleichen Keim als B. cadaveris sporogenes in menschlichen und tierischen Leichen beschrieben hatte. E. v. Hibler, der einen Teststamm von Klein untersuchte, identifizierte 1908 die beiden Fäulniserreger und bezeichnete darüber hinaus auch ein 1886

von Liborius beschriebenes Clostridium foetidum und den Bacillus radiatus (Lüderitz 1889) als identisch mit Putrificus Bienstock. Er benennt die Art als Kleinschen Kadaverbazillus. Dabei ist zu bemerken, daß v. Hibler und andere Autoren [Caspari (9), Kruse (11) dem mittelständigen oder polständigen Auskeimen der Sporen keine artkennzeichnende Bedeutung beimessen, während neuerdings Hall die Clostridium- und Plectridium-Formen zuy Ausgangspunkt einer systematischen Differenzierung der Anaërobier benutzt.

Ueber die verschiedenen Angaben bezüglich der Zuckervergärung beim B. putrificus ist bereits gesprochen worden. Ich habe das Verhalten meiner behandelten Fäulnisbazillen zu den verschiedenen Zuckerarten (u. a. Dextrose, Saccharose, Laktose, Galaktose, Maltose, Dextrin, Mannit) in der von den amerikanischen Autoren Randall und Hall empfohlenen Weise (29) genauer zu bestimmen versucht, bei der man den Zuckergehalt einer gewöhnlichen Nährbrühe erst durch Einsaat einer Reinkultur von Gasbrand erschöpft, dann nach Sterilfiltration die zu prüfenden Zuckerarten zusetzt und nun den Wasserstoffionengehalt vor und nach der Kultivierung der verschiedenen Reinkulturen bestimmt. Die Bestimmungen der p^H-Zahl habe ich mit dem Michaelisschen Komparator vorgenommen. Die Ergebnisse dieser Versuche waren bei öfterer Wiederholung nicht nur bezüglich der wahrnehmbaren Gasbildung, sondern auch bezüglich der p^H-Zahl so ungleichmäßig, daß sich keine sicheren Schlüsse daraus ziehen lassen. Es scheint mir auch, daß die von den amerikanischen Autoren empfohlene Erschöpfungsmethode den Nährwert der Nährbrühe durch Eiweißabbau so stark beeinträchtigt, daß der nachträgliche Zusatz von Zucker diesen Mangel nicht ausgleichen kann: die nach der Sterilfiltration und dem Zuckerzusatz angelegten Kulturen wachsen viel langsamer und schlechter als in unerschöpfter Nährbrühe.

Während die meisten Autoren dem Bienstockschen Bazillus keine pathogene Bedeutung zusprechen [Bienstock (18), Tissier u. Martelly (22), Graßberger u. Schattenfroh (26), Passini (17), Pfeiffer u. Bessau (8), Zeißler (2)], hat v. Hibler einen seiner Stämme aus einer Gasgangrän nach kompliziertem Unterschenkelbruch gezüchtet, und zwar als einzige anaërobe Art neben Staphylokokken und Streptokokken. Auch Rodella (23) fand die Art in einem Gasabszeß, ebenso beschrieb Tavel (24) einen „Pseudotetanusbazillus", der allerdings keine große Sporenresistenz hatte, in Abszessen, die vom Wurmfortsatz ausgegangen waren. Als Unterscheidungsmerkmal gegenüber dem echten Tetanus nennt Tavel die ovale Form der Sporen und die Armut an Geißeln. Jedenfalls muß man jetzt auf Grund der Paraputrificus-Befunde von Bienstock im Darminhalt normaler Menschen und der Untersuchungen von Graßberger und Schattenfroh (26), Passini (17), Salus (25) u. a. wohl annehmen, daß der B. putrificus nicht nur in der Außenwelt, sondern auch im menschlichen Darm ziemlich häufig vorkommt und von da aus auch gelegentlich in andere Organe gelangen kann. In Gemeinschaft mit pathogenen Anaërobiern haben auch Pfeiffer und Bessau den Uhrzeigertypus häufig gefunden.

Einige englische Autoren glauben nach Hall (4), daß viele der im Verkehr befindlichen Putrificus-Kulturen in Wirklichkeit Ge-

mische von B. cochlearius (Douglas, Fleming and Colebrock 1919) und B. tertius (Henry 1917) mit B. sporogenes Metschnikoff seien und setzten sogar den Namen Cochlearius statt Putrificus, was die Verwirrung noch mehr erhöht. Hall, dem man sehr genaue Untersuchungen über Anaëroben verdankt, beschreibt den Putrificus als gramlabil und ohne Einwirkung auf Milch. Graßberger und Schattenfroh sahen bei Putrificus nur ein proteusähnliches Oberflächenwachstum ohne Bildung scharf begrenzter Kolonien. Das englische Medical Research Committee konnte keine Verflüssigung der Gelatine feststellen. In dem von Hall (4) aufgestellten „System der Anaërobier werden als Arten" mit endständigen Sporen außer Putrificus und Tetanus noch der B. tetanomorphus (Mc Intosh and Fildes), wahrscheinlich identisch mit dem von Tavel beschriebenen Pseudotetanus, der B. tertius (Henry 1917) und wahrscheinlich identisch mit dem Rodellaschen Bazillus aus dem Säuglingsdarm (1902) und der B. sphenoides (Douglas, Fleming and Colebrock 1919) genannt, so daß die Artbestimmung der Putrificus-Gruppe damit weiterhin kompliziert wird.

Zum Schluß will ich Herrn Oberregierungsrat Manteufel für seine freundliche Hilfe bei diesen Untersuchungen auch an dieser Stelle meinen besten Dank aussprechen.

Zusammenfassung.

1) Es werden 3 selbstgezüchtete anaërobe Fäulnisstämme beschrieben und mit bekannten Kulturen der Putrificus-Gruppe verglichen. — 2) Ungeachtet gewisser kultureller Unterschiede zwischen den untersuchten 6 Kulturen scheinen mir die Unterschiede nicht so konstant und deutlich zu sein, daß sich danach eine Zerlegung der Gruppe in Unterarten ermöglichen läßt. — 3) Die Agglutinationsreaktion hat sich zur Zusammenfassung der 6 untersuchten Fäulnisstämme in eine gemeinsame Gruppe und zur Abgrenzung derselben von der systematisch nahestehenden Tetanusgruppe nicht brauchbar erwiesen. — 4) Die Widersprüche in den Literaturangaben über die einzelnen Artmerkmale der Putrificus-Bazillen sind auffällig groß.

Quellenangabe.

1) Manteufel, P., Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 89. 1922. S. 248. — 2) Zeißler, J., Zeitschr. f. Infektionskrankh. d. Haustiere. Bd. 21/22. 1922. S. 1. — 3) Smith, Th., Centralbl. f. Bakt. Bd. 18. 1895. S. 3; Bd. 22. 1897. S. 49. — 4) Hall, J. C., Journ. of infect. Dis. Vol. 30. 1922. p. 445. — 5) Manteufel, P., Centralbl. f. Bakt. Abt I. Referate Bd. 75. 1923. S. 565. — 6) Lentz, O., ebenda. Abt. I. Orig. Bd. 53. 1910. S. 358. — 7) van Riemsdiejk, M., ebenda. Bd. 88. 1922. S. 229. — 8) Pfeiffer u. Bessau, Dtsch. med. Wochenschr. Bd. 43. 1917. S. 1, 17, 1255, 1281. — 9) Caspari, Arch. f. Hyg. Bd. 42. 1902. S. 71. — 10) Hibler, E. v., Untersuch. über die pathog. Anaëroben. Jena (G. Fischer) 1908. S. 200. — 11) Kruse, W., Allgem. Mikrobiologie. 1910. S. 1134. — 12) Heim, L., Lehrbuch der Bakteriologie. 1911. S. 199. — 13) Becker, L., Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 84. 1921. S. 80. — 14) Sammet, Hyg. Rundsch. Bd. 21. 1911. S. 1013. — 15) Hall, J. C., Journ. infect. Dis. Vol. 29. 1921. p. 321. — 16) Gaethgens, W., Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 80. 1918. S. 166. — 17) Passini, Münch. med. Wochenschr. 1904. S. 1283 — 18) Bienstock, Ann. Inst. Pasteur. T. 20. 1906. p. 407. — 19) Ders., Zeitschr. f. klin. Med. Bd. 8. 1884. S. 1. —

20) Klein, Centralbl. f. Bakt. Bd. 25. 1899. S. 278. — 21) Conradi u. Bieling, Münch. med. Wochenschr. 1916. S. 133; 5. S. 178; 28. S. 1023; 29. S. 1068; 44. S. 1561; 45. S. 1608. — 22) Tissier u. Martelly, Annales Institut. Pasteur. T. 16. 1902. p. 865. — 23) Rodella, Zeitschr. f. Hyg. Bd. 39. 1902. S. 20; Bd. 41. S. 466. — 24) Tavel, Centralbl. f. Bakt. Bd. 23. 1898. S. 538. — 25) Salus, Arch. f. Hyg. Bd. 51. 1904. S. 97. — 26) Graßberger, R., u. Schattenfroh, A., Ebenda. Bd. 40. 1907. S. 60. — 27) Werner, Arch. f. Hyg. Bd. 53. 1905. S. 128. — 28) Kossowicz, Zeitschr. f. Nahrungsm. Bd. 33. 1917. S. 69. — 29) Randall and Hall, Journ. of infect. Dis. Vol. 29. 1921. p. 344.

Nachdruck verboten.

Paratyphus B-ähnliche Bakterien in den Menschenfäzes.

Von Privatdozent Dr. **Alfred Trawiński**, Lemberg (Polen).

Die Kenntnis der in menschlichen Fäzes vorkommenden Paratyphus B-ähnlichen Bakterien ist für den Bakteriologen von großem Interesse in bezug auf die oft vorhandene Möglichkeit der Identifizierung solcher Keime mit echten Paratyphus B-Bazillen (Typus Schottmüller). Bei einer mehr oberflächlichen Untersuchungsmethodik sind Paratyphus B-ähnliche Stämme vom B. paratyphi B (Schottmüller) kaum zu unterscheiden; die Differenzierung gelingt aber bei genauerem Studium der biologischen, vorwiegend aber der serologischen (Kreuzagglutination) Eigenschaften. Es scheint keinem Zweifel zu unterliegen, daß viele solcher Stämme, die wahrscheinlich auch in der Außenwelt vorkommen, als echte Paratyphus B diagnostiziert wurden. Damit wäre auch vielleicht gewissermaßen die im allgemeinen überschätzte Annahme mancher Forscher der so starken Verbreitung der Paratyphus B-Bakterien zu erklären, ein Umstand, auf den ich[1]) bereits hingewiesen habe.

Vom epidemiologischen Standpunkt bietet die Gruppe der Paratyphus B-ähnlichen Bakterien ein geringes Interesse, da diese Bakterien fast ausschließlich Saprophyten sind und nur selten unter äußerst günstigen Verhältnissen menschenpathogene Wirkung entwickeln können. Paratyphus B-ähnliche Stämme finden sich seltener in den Fäzes gesunder, öfter aber in denjenigen kranker Menschen. Ich habe sie als sog. „Begleitbakterien" recht oft aus Fäzes Typhus-, Paratyphus- und Ruhrkranker sowie von Rekonvaleszenten isolieren können. Die Anwesenheit dieser Keime (speziell Gruppe V) fiel besonders in den Darmentleerungen von Ruhrrekonvaleszenten sehr auf. Die anfangs geringe Besäung der Agarplatten (Drigalski, Endo) mit Kolonien Paratyphus B-ähnlicher Keime neben zahlreichen Dysenteriekolonien nahm mit zunehmender Rekonvaleszenz stark zu, wobei die Anzahl

1) Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 90. 1923, H. 1.

der Dysenteriekolonien immer mehr herabgesetzt wurde. Ich habe gewissen Grund, anzunehmen, daß diesen Bakterien irgendeine Rolle während des Rekonvaleszenzprozesses des Patienten zukommt, eine Feststellung, deren Erklärung, wie diesbezügliche, noch nicht abgeschlossene Untersuchungen zeigen, in der Ueberwucherung der spezifischen (Dysenterie) durch nichtspezifische (Paratyphus B-ähnliche) Keime zu suchen ist.

Das bearbeitete Material erstreckte sich auf 91 Stämme, von denen 18 aus den Fäzes gesunder und 73 als Begleitbakterien aus denen typhus-, paratyphus- und dysenteriekranker Menschen bzw. Rekonvaleszenten mit positiver bakteriologischer Diagnose gezüchtet worden sind.

In sämtlichen 91 Fällen handelte es sich um gut bewegliche, mit zahlreichen Geißeln in peritricher Anordnung versehene, kurze Stäbchen mit leicht abgerundeten Enden, die sich mit Anilinfarbstoffen leicht färbten und gramnegativ waren, also in allgemein morphologischer Hinsicht dem B. paratyphi B (Schottmüller) völlig glichen, sich aber durch den Kolonietypus von demselben unterschieden, da sie auf Agarplatten keinen Schleimwall entwickelten.

Sämtliche Stämme zeigten auf gewöhnlichen Nährsubstraten (Nährbouillon, Nährpepton, Nährgelatine und Schrägagar) ein übereinstimmendes Verhalten untereinander wie auch im Vergleich zu B. paratyphi B (Schottmüller). Variable Veränderung zeigten die Stämme in der Lackmusmolke (bezogen von C. A. F. Kahlbaum, Berlin-Adlershof) und Milch. Nach 4—6stünd. Bebrütung des beimpften Nährbodens (Lackmusmolke) trat eine Rötung, welche innerhalb weiterer 16—20stünd. Bebrütung ins Veilchenviolette umschlug, ein. Ließ man die Kulturen weiter im Thermostaten stehen, so trat vorwiegend am 6. resp. 7. Tage der Bebrütung die anfängliche Rötung des Nährbodens wieder auf, d. h. die veilchenviolette Färbung schlug in eine rote um. Eine weitere Veränderung konnte nicht beobachtet werden, auch wenn die Kulturen einer 3wöchigen Bebrütung ausgesetzt waren. Dieses Verhalten in der Lackmusmolke zeigten sämtliche Stämme, mit Ausnahme von 6 (Nr. 19, 22, 39, 47, 48, 80). Dieselben 6 Stämme ließen auch die Milch unverändert (keine Gerinnung), während alle anderen Stämme zwischen dem 8. und 10. Bebrütungstage die Milch zur Gerinnung brachten. Sämtliche Stämme bildeten in Tryptophanlösung (nach Zipfel) bzw. 5proz. Peptonwasser innerhalb der ersten 24 resp. 48 Std. Indol.

Die biologischen Eigenschaften sämtlicher Stämme wurden in festen (Stichkultur) Nährböden mit Zusatz folgender Zuckerarten geprüft: Dextrose, Lävulose, Galaktose, Mannose, Saccharose, Laktose, Maltose, Raffinose, Inulin, Stärke, Erythrit, Xylose, Arabinose, Rhamnose, Dulzit, Mannit und Sorbit. Sämtliche Stämme zeigten auf Nährböden mit Zusatz von Dextrose, Lävulose, Galaktose, Mannose, Saccharose, Laktose, Raffinose, Inulin, Stärke, Erythrit, Arabinose, Rhamnose und Mannit dasselbe Verhalten untereinander wie auch im Vergleich zu B. paratyphi B (Schottmüller). Unterschiede ließen sich auf anderen Zuckerarten, speziell Glyzerin, Xylose und Dulzit, feststellen (siehe Tabelle).

Tabelle.

Bakteriengruppe	Bakterienstamm	Dextrose	Lävulose	Galaktose	Mannose	Saccharose	Laktose	Maltose	Raffinose	Inulin	Stärke	Glyzerin	Erythrit	Xylose	Arabinose	Rhamnose	Dulzit	Mannit	Sorbit	Milch	Indolreaktion	Lakmusmolke (innerhalb 3 Wöch.	
I	22	+	+	+	+	—	—	+	—	—	—	—	—	+	+	+	+	+	+	—	+	R	V
II	39, 80	+	+	+	+	—	—	+	—	—	—	—	—	—	+	+	+	+	+	—	+	R	V
III	8, 19, 47, 48	+	+	+	+	—	—	+	—	—	—	—	—	+	+	+	—	+	+	—	+	R	V
IV	10, 43, 62, 67, 82, 84	+	+	+	+	—	—	+	—	—	—	—	—	+	+	+	+	+	—	+	+	R	V
V	2, 3, 5. 7, 9, 14, 15, 17, 18, 23, 24, 28, 29, 33, 34, 41, 42, 44, 51, 54, 59, 60, 71, 72, 75, 78, 79, 86, 88, 89, 90, 91	+	+	+	+	—	—	+	—	—	—	+	—	+	+	+	—	+	+	+	+	R	V
VI	6, 26, 27, 30, 32, 37, 38, 46, 50, 52, 55, 56, 58, 61, 64, 66, 68, 69	+	+	+	+	—	—	+	—	—	—	+	—	—	+	+	+	+	+	+	+	R	V
VII	1, 21, 36, 53, 63, 70, 83	+	+	+	+	—	—	+	—	—	—	+	—	—	+	+	—	+	+	+	+	R	V
VIII	4, 11, 12, 13, 16, 20, 25, 31, 35, 36, 40, 45, 49, 65, 73, 74, 76, 77, 81, 85, 87	+	+	+	+	—	—	—	—	—	—	+	—	—	+	+	—	+	+	+	+	R	V
B. paratyphi B (Schottmüller)		+	+	+	+	—	—	+	—	—	—	—	—	+	+	+	+	+	+	—	—	R	V

Anmerkung: + bedeutet Vergärung
— „ keine Vergärung
R „ rote Färbung
V „ veilchenviolette Färbung.

Die Tabelle zeigt, daß sich sämtliche 91 Stämme ihrem kulturellen und biologischen Verhalten nach in 8 (I—VIII) Gruppen einteilen lassen. Vom kulturell-biologischen Standpunkte aus wäre anzunehmen, daß Stämme der ersten 3 Gruppen (I—III) dem B. paratyphi (Schottmüller) am nächsten stehen. Sie unterscheiden sich eigentlich vom B. paratyphi B (Schottmüller) nur durch positive Indolreaktion (I. Gruppe), bzw. auch durch die Vergärungsfähigkeit nur einer Zuckerart der geprüften „bunten Reihe" (II. und III. Gruppe).

Die Ergebnisse der umfangreichen Agglutinationsversuche zeigen, daß gerade die Stämme der angeführten 3 Gruppen (I—III) in keiner serologischen Verwandtschaft zum B. paratyphi B (Schottmüller) stehen und daß sie durch Paratyphus B-Immunserum (Titer 1:12000) auch in der niedrigsten Verdünnung (1:100) nicht ausgeflockt wurden. Dasselbe Paratyphus B-Immunserum agglutinierte dagegen die Stämme der V., VI. und VII. Gruppe zu $^1/_{12}$—$^1/_8$ und Stämme der IV. und VIII. Gruppe zu $^1/_{18}$—$^1/_{15}$ der Titerhöhe, obwohl diese Stämme kulturell und biologisch vom B. paratyphi B (Schottmüller) weiter entfernt sind, als die Stämme der ersten 3 (I—III) Gruppen. Die Vertreter (Stämme Nr. 22, 39, 8, 10, 2, 6, 1, 11) jeder der 8 biologischen Gruppen (I—VIII) bildeten ein hochwertiges Immunserum (Tit. 1:10000—1:20000), welches außer dem homologen Stamm auch andere Stämme derselben Gruppe bis zur Titergrenze und Stämme anderer Gruppen nur in geringer Verdünnung flockte. Kein mit dem Vertreter einzelner Gruppen hergestelltes Kaninchenimmunserum beeinflußte den B. paratyphi B (Schottmüller) wie auch andere Bakterienstämme der engen Paratyphus B-Gruppe auch in der niedrigsten Verdünnung, eine Beobachtung, die auf eine Verwandtschaft

der geprüften Stämme mit dem B. paratyphi B (Schottmüller) nicht schließen läßt, auch wenn dieselben kulturell und biologisch große Aehnlichkeit (Gruppe I—III) mit B. paratyphi B (Schottmüller) aufweisen[1]).

Die Feststellung der kulturellen und biologischen Eigenschaften wie auch das Ergebnis einseitiger Agglutinationsreaktion genügen somit noch nicht, um ein isoliertes Stäbchen als B. paratyphi B (Schottmüller) zu bestimmen. Diese Entscheidung ermöglicht erst das Ergebnis der Kreuzagglutination. Wenn also ein Bakterienstamm als B. paratyphi B (Schottmüller) anerkannt werden soll, so muß das mit diesem Stamme gewonnene Immunserum außer dem homologen Stamme auch den Kontrollstamm B. paratyphi B (Schottmüller) in ziemlich starker Verdünnung ausflocken. Ist dies nicht der Fall, d. h. wird ein Bakterienstamm durch das Paratyphus B-Immunserum in niedriger Verdünnung ausgeflockt und beeinflußt das mit diesem Stamm hergestellte Immunserum den B. paratyphi B nicht, so ist nur an eine Mit- bzw. Paraagglutination zu denken. Falls es sich aber um einen echten Paratyphus B-Stamm handelt, so flockt das mit diesem Stamme hergestellte Immunserum den zur Kontrolle benutzten Paratyphus B in starker Verdünnung aus, auch wenn es sich um einen schwach agglutinablen, also durch das Paratyphus B-Immunserum nur in niedriger Verdünnung ausflockbaren Stamm handelt.

Daß es bei sämtlichen isolierten Stämmen sich wirklich um paratyphus B-ähnliche und keine echten Paratyphus B- (Schottmüller) Bakterien handelte, beweist auch das völlig negative Ergebnis der Gruber-Widalschen Reaktion mit Patienten- bzw. Rekonvaleszentenserum, wie auch das der Pathogenitätsversuche. Viele solcher Stämme habe ich auch aus dem Darminhalt gesunder Tiere (besonders Pferde) gezüchtet.

Nachdruck verboten.

Vergleichende Untersuchungen über den Stoffwechsel von Bacterium coli und typhi, mit besonderer Berücksichtigung des Endoschen Nährbodens.

[Aus dem Hygienischen Institut der Universität Kiel (Direktor: Prof. Dr. Kißkalt).]

Von Dr. med. **J. Barnewitz,** Assistenten am Institut. und **Heinrich Flecke,** ehem. Med.-Prakt. am Inst.

Die dieser Arbeit zugrunde liegenden Versuche gehen von der Tatsache aus, daß auch Typhuskolonien nach längerer Bebrütung als 24 Std. auf dem Endoschen Nährboden eine rötliche Farbe aufweisen, besonders dann, wenn durch das Beimpfen des Nährbodens Risse im Agar entstanden sind und die Kolonien in diesen Rissen liegen.

1) Das Gärtner-Immunserum zeigte völlige Unempfindlichkeit sämtlichen isolierten Stämmen gegenüber.

Es wurden zunächst Oberflächenaussaaten auf Endoschen Nährboden — nach der Originalvorschrift (1) — und zum Vergleiche auf Chinablaumilchzuckeragar nach Bitter von Colon- und Typhusbakterien angelegt, und mit denselben Nährböden und Keimen auch Platten gegossen, und zwar jede Bakterienart für sich als auch miteinander gemischt. Nach 24stünd. Bebrütung bei 37° sind auf den oberflächlichen wie gegossenen Rein- und Mischkulturen die Typhuskolonien zart und farblos gewachsen, die Coli-Kolonien auf Endoschem Nährboden leuchtend rot, auf dem Chinablaumilchzuckeragar nach Bitter tiefblau. Nach weiterer 24stünd. Bebrütung bei 37° erschienen besonders auf den gegossenen Endo-Platten die ersten rosa gefärbten Kolonien von Typhusbakterien. Am ausgeprägtesten war die Färbung bei den tiefliegenden Kolonien, wogegen unter den oberflächlichen Kolonien nur ein Teil der Typhuskolonien eine leicht rosa Färbung aufwiesen. Der ganze Nährboden hatte auch bei den mit Reinkulturen von Typhus geimpften Platten sich rot gefärbt. Auf dem Chinablaumilchzuckeragar nach Bitter waren die Typhuskolonien in der Farbe nicht verändert. Die Coli-Kolonien waren auf allen Endo-Platten leuchtend rot, die oberflächlichen mit Fuchsinglanz und hatten auch die Umgebung rot gefärbt, auf Chinablaumilchzuckeragarplatten waren sie tiefblau und hatten dem umgebenden Nährboden eine tiefblaue Farbe verliehen. Die Kulturen wurden 1 Woche lang alle 24 Std. untersucht. Die Farbe der Coli-Kolonien auf dem Endo-Agar und der Typhus- und Coli-Kolonien auf Chinablaumilchzuckeragar veränderte sich nicht mehr. Bei den Typhuskolonien auf Endo-Nährböden nahm die Rotfärbung der im Agar liegenden Kolonien an Intensität zu, die Farbe der oberflächlichen ging von rosa in ein zartes rot über. Bei diesen Befunden war das frühere und stärkere Hervortreten der Rotfärbung bei den im Agar liegenden Kolonien auffällig, so daß der Gedanke nahe lag, der Sauerstoffmangel könne hierfür begünstigend wirken. Anaërobe Kulturen unter sonst gleicher Versuchsanordnung wie bei den aëroben lieferten keine anderen Ergebnisse, ebenso wie auch ein ganz frisch gezüchteter Typhusstamm. Diese Beobachtungen decken sich vollständig mit denen, die Ruata (7) bei Züchtung von Colon- und Typhusbakterien auf Endo-Agar machte.

Zur Erklärung dieser Tatsache könnte angeführt werden, daß beide Bakterienarten aus dem Milchzucker die Säurevorstufe, Aldehyde, bilden, die von den Colonbakterien sofort zu Fettsäuren oxydiert werden, während der Prozeß bei den Typhusbakterien bei der Bildung der Aldehyde stehen bliebe. Auch Aldehyde färben ja eine mit Natriumsulfit entfärbte Fuchsinlösung intensiv rot. Fürntratt (2) gibt auf Grund von Beobachtungen bei Züchtung von Colon- und Typhusbakterien auf Endoschem Nährboden und nach den Ergebnissen von Reagenzglasversuchen an, daß es sich bei der Rotfärbung dieses Nährbodens sowohl um eine Säure- als auch um eine Aldehydwirkung handeln kann. Die Prüfung auf Bildung von Aldehyden wurde vorgenommen nach dem quantitativen Verfahren zur Bestimmung des Formaldehyds von G. Romiyn (6). Das Verfahren beruht darauf, daß Aldehyde durch Jodzusatz in alkalischer Lösung nach kurzem Stehen quantativ zu Säuren oxydiert werden. Aus diesen Versuchen ergab sich unter Anwendung der erforderlichen Kontrollen, daß sich nach 12-, 24- und 72stünd. Bebrütung in den Milchzuckerbouillonkulturen von Colon- und Typhusbakterien nicht mehr Aldehyde

finden als in unbeimpfter Milchzuckerbouillon. Eine Wirkung im Sinne einer Rotfärbung von entfärbtem Fuchsin durch Aldehyde kann nach diesen Ergebnissen auch für die Typhusbakterien nicht angenommen werden.

So konnte zur Erklärung der Rotfärbung des Endo-Agars durch Typhusbakterien nur eine Säurewirkung in Frage kommen. Orientierende Reagenzglasversuche über die Rotfärbung eines farblosen Natriumsulfit-Fuchsingemisches zeigten, daß durch starke H·-Konzentration — anorganische Säuren — keine Rotfärbung zu erzielen ist, sondern daß im Gegenteil ein etwa vorhandener schwacher rosa Farbenton vollständig verschwand, solange die Reaktion bei Zimmertemperatur vor sich ging. Wurden jedoch bei 37° die Reaktionen ausgeführt, so bewirkten Salzsäure 1:100 und Salpetersäure 1:10 und 1:100 nach 48 Std. eine starke Rötung des farblos gewesenen Gemisches. Wurde als Säurezusatz Essigsäure 1:10 und 1:100 und Milchsäure 1:10 und 1:100 gewählt, so ergaben Essigsäure 1:100 und Milchsäure 1:10 nach 48 Std. bei Zimmertemperatur Rotfärbung. Bei Brutschranktemperatur trat nach Zusatz von Essigsäure oder Milchsäure in den Konzentrationen 1:10 und 1:100 sofort Rotfärbung ein, die nach 48 Std. zugenommen hatte am intensivsten bei der Milchsäure 1:10. Es wurde nun das Säurebildungsvermögen der Coli- und Typhusbakterien untersucht in gewöhnlicher Nährbouillon und 1proz. Milchzuckerbouillon. Die Bestimmung vermittels der Titration ergab, daß Typhus- und Colonbakterien ungefähr die gleiche Säuremenge in gewöhnlicher Nährbouillon bilden, daß Typhusbakterien aus Milchzuckerbouillon ebenfalls dieselbe Säuremenge liefern und daß Colonbakterien in Milchzuckerbouillon etwa 100—150 Proz. größere Mengen bilden. Da für die Wirkung einer Säure der Grad ihrer Dissoziierung das Wesentliche ist und dieser mit der Titrationsmethode nicht ermittelt werden kann, wurden die H·-Konzentrationen von Colon- und Typhusbakterienkulturen in Nährbouillon (P_H 7,6) und 1proz. Milchzuckerbouillon (P_H 7,6) nach der Indikatorenmethode von Friedenthal und Sörrensen (3) bestimmt. Der P_H in Nährbouillonkulturen (37°) von Colon- und Typhusbakterien nach 24 und 48 Std. wurde auf diese Weise mit 7,0—7,2 ermittelt, ebenso auch für Typhusbakterien in 1proz. Milchzuckerbouillonkultur (37°) nach 24 und 48 Std. Für Colonbakterien ließen sich mit dieser Methode in der Milchzuckerbouillonkultur keine Werte finden, weil der Indikator Congorot — für P_H 3—6 — sich in diesem Medium als unbrauchbar erwies. Nach Scheer (8), der die H·-Konzentrationen mit der Gaskette nach Michaelis bestimmte, beträgt der P_H für Colonbakterienkulturen in Milchzuckerbouillon 5 und ändert sich auch nach sehr langer Bebrütung nicht mehr.

Es ließ sich also feststellen, daß Typhusbakterien in gewöhnlicher Nährbouillon wie auch in 1proz. Milchzuckerbouillon Säure, wenn auch in sehr geringen Mengen, bilden. Als Quelle für die Säurebildung kämen wohl in erster Linie die in der Bouillon enthaltenen Eiweißstoffe in Betracht. Versuche mit eiweißfreien Nährmedien zeitigten keine Ergebnisse, weil die Typhusbakterien nicht wuchsen. Waren die Eiweißstoffe das Material, aus dem die Säure gebildet wurde, so konnten diese in Form von Aminosäuren in den Bouillonkulturen vorhanden sein. Nach der von H. Schiff (4) ausgearbeiteten Formoltitration sind wir in der Lage, die Menge des in Aminosäuren um-

gewandelten Stickstoffs zu berechnen. Nach dieser Methode ausgeführte Bestimmungen ergaben, daß die in Typhus- und Coli-Kulturen nach 24 Std. durch Eiweißabbau entstandene Säuremenge 1,9 bis 1,6 ccm n/5 Natronlauge entspricht und sich in 72 Std. alter Kultur nicht ändert. Um die Wirkung dieser Säuremenge auf eine mit Natriumsulfit entfärbte Fuchsinlösung zu prüfen, wurden Reagenzglasversuche angestellt. Bei Zusatz einer dem gefundenen Werte entsprechenden Menge n/5 Salzsäure zu einem farblosen Fuchsinnatriumsulfitgemisch trat auch bei 37° keine Farbänderung ein. Bei Zusatz einer entsprechenden Menge n/12 Milchsäure zeigte sich sofort eine deutliche Rosafärbung, die bei 37° an Intensität stark zunahm. Aus diesen Versuchen ergab sich, wie es auch zu erwarten war, daß nicht die Säuremenge, sondern die Menge der dissoziierten H-Ionen von Einfluß auf die Rotfärbung eines farblosen Fuchsinsulfitgemisches ist. Der gesamten Milchsäuremenge entspricht ein P_H von 5,6, nach der Indikatorenmethode ermittelt. Prüft man ein farbloses Fuchsinsulfitgemisch mit den Standardlösungen nach Sörrensen (3), so zeigt sich, daß zwischen $P_H = 4{,}8—56$ eine ganz intensive Rotfärbung auftritt. Zwischen $P_H = 4{,}8—1{,}2$ wird die Rotfärbung schnell schwächer, von $P_H = 3{,}4$ ist überhaupt keine Rosafärbung mehr zu sehen. Nach der anderen Richtung geht die Abnahme der Rotfärbung langsamer vor sich, bei $P_H = 7{,}0—7{,}4$ ist noch Rosafärbung deutlich zu erkennen. Das Maximum der Rotfärbung liegt etwa bei $P_H = 5$; das sind die Werte, wie sie für Coli in Milchzuckerbouillonkulturen gefunden sind. Bei den Werten, die sich für die Säurung von Typhus- und Coli-Bakterien in Nährbouillon ergeben — P_H 7,0—7,2 — finden wir noch eine ausgesprochene Rosafärbung. Das würde die Erscheinung erklären, daß Colonbakterien auf Endo-Agar mit stark roter Farbe wachsen, Typhuskolonien eine deutliche Rosafärbung aufweisen. Die stärkere rote Farbe der tief gelegenen Typhuskolonien ist wohl so zu erklären, daß sie allseitig von Agar umgeben sind, der sich durch die Säurebildung in der nächsten Umgebung der Kolonie rot färbt. So scheinen sie stärker rot gefärbt als die an der Oberfläche gelegenen Kolonien, die nur mit einer Seite dem verfärbten Agar aufliegen. Wird der Milchzuckerzusatz zum Endoschen Nährboden fortgelassen, so wachsen Colon- und Typhusbakterien nach 24stünd. Bebrütung bei 37° als rosa Kolonien, wie es auch schon von Marpmann (5) beschrieben wurde. Als sehr wesentlich bei den geschilderten Versuchen hat es sich herausgestellt, daß der Fuchsinlösung nicht mehr Natriumsulfit zugesetzt wird, als zur Entfärbung gerade notwendig ist.

Literaturverzeichnis.

1) Endo, Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 33. S. 109. — 2) Fürntratt, ebenda. Bd. 39. S. 487. — 3) Friedenthal u. Sörrensen, nach Schade: Technik der medizinisch wichtigsten physiko-chemischen Untersuchungsmethoden in Brugsch-Schittenhelm: Handbuch der klinischen Untersuch.-Methoden. — 4) Jessen-Hansen, Handb. d. biochemischen Arbeitsmethoden, herausgeg. v. Abderhalden, Bd. 6. — 5) Marpmann, Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Bd. 16. S. 817. — 6) Romiyn, zit. nach Treadwell, Analyt. Chemie. Bd. II. Quantitative Analyse. Jahrg. 1919. S. 597. — 7) Ruata, Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 36. S. 576. — 8) Scheer, Zeitschr. f. Immunitätsf. Bd. 33. S. 36.

Nachdruck verboten.

Ueber die „physiologische“ Agglutination des Y-Dysenteriebazillus.

[Aus dem Zentrallaboratorium der Krankenhäuser der jüdischen Gemeinde in Budapest (Vorstand: Oberarzt Dr. D. Acél).]

Von Dr. **D. Acél** und Dr. **Anna Acél-Vécsei.**

W. Loewenthal und Bertkau[1]) berichteten 1919 über ihre Erfahrungen, laut welchen das Blutserum gravider Frauen am Ende der Schwangerschaft, ferner das retroplazentare Blutserum Gebärender und das Serum stillender Frauen den Y-Dysenteriebazillus in einem großen Prozentsatz der Fälle agglutiniert. Die in Berlin und Königsberg angestellten Versuche ergaben, daß die untersuchten Blutsera in 38,58 Proz. bzw. 32,9 Proz. die zu den Versuchen verwendeten zwei Y-Dysenteriestämme in einer 1:100-Verdünnung stark agglutinierten. Diese Versuche wurden von Hausherr[2]) in Bern wiederholt, und zwar mit dem Resultate, daß die untersuchten retroplazentaren Blutsera die zu den Versuchen verwendeten 3 Y-Dysenteriestämme in 90 Proz., 57 Proz. bzw. 53 Proz. in einer Verdünnung von 1:100 bzw. 1:200 stark agglutinierten. Hausherr untersuchte diese Agglutinationsfähigkeit der Sera von Schwangeren auch gegen andere Bakterien und kam zu dem Ergebnis, daß 22 Proz. der untersuchten Sera in einer Verdünnung von 1:100—1:200 den Flexner-Bazillus, 22 Proz. in einer Verdünnung von 1:50—1:100 den Shiga-Kruse-Bazillus, schließlich 5 Proz. in einer Verdünnung von 1:100 den Typhusbazillus agglutinieren. Der Der Choleravibrio wurde von keinem Serum agglutiniert.

Vorschütz[3]) in Kiel stellte noch ähnliche Versuche an. Nach seinen Versuchen agglutinieren 46 Proz. der Blutsera gravider Frauen in einer 1:200-Verdünnung die Cholera-, Coli-, Y- und Flexner-Stämme, jedoch nicht die Shiga-Kruse-, Paratyphus A- und B-, Breslau- und Gärtner Stämme.

Ueber die Agglutination der Sera Schwangerer finden sich ältere Angaben in der Arbeit von Fellenberg und Döll[4]), welche sich mit den biologischen Unterschieden zwischen dem mütterlichen und dem fötalen Blute befaßt.

Loewenthal[5]) und andere Autoren wiesen darauf hin, daß die Agglutinationsfähigkeit der Blutsera Schwangerer und Gebärender gegen den Y-Dysenteriebazillus keinesfalls die Bedeutung einer überstandenen Dysenterie von seiten dieser Frauen haben könne. Die zur Kontrolle untersuchten Sera Nichtschwangerer und Nichtgebärender agglutinierten den Bazillus in einem viel kleineren Prozentsatz, ferner verbreitet sich die Dysenterie in den Städten Berlin, Königsberg, Bern, Kiel, wo die Versuche stattfanden, nie in dem Maße, daß der große Prozentsatz der positiven Agglutinationen sich dadurch erklären ließe.

Die genannten Autoren wiesen bei ihren Forschungen nach der Ursache dieser Agglutination nach, daß hier weder von der sog. anamnestischen Serumreaktion, noch von einer Aenderung des Kalzium-, Kieselsäure- oder Lipoidstoffwechsels, oder von dem Auftreten gewisser, z. B. antiproteolytischer Stoffe im Blutserum, noch von einer allgemeinen Aktivierung des Protoplasmas die Rede sein kann. Loewenthal und Hausherr geben ihrer Ueberzeugung Ausdruck, daß dieselben biologischen Veränderungen, welche unter denselben Verhältnissen die Agglutination der roten Blutkörperchen verursachen, der Grund dieser physiologischen Agglutination des Serums Gravider wären, d. i. laut Fahreus die Verminderung der negativen elektrischen Ladung.

1) Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 83. S. 315.
2) Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 87. S. 95.
3) Pflügers Arch. Bd. 186. S. 290.
4) Zeitschr. f. Geburtsh. u. Gynäk. Bd. 75. S. 285.
5) Zeitschr. f. Immunitätsforschung. Orig. Bd. 30. S. 439.

Wir stellten unsere Versuche an retroplazentaren Blutseren an, jedoch verarbeiteten wir in jedem Falle auch das dazugehörende Nabelschnurblut und wollten Antwort auf folgende Fragen erhalten:

1) Findet auch im Blute der hiesigen Gebärenden die sog. physiologische Y-Agglutination statt? — 2) Wie ist der feine Mechanismus dieser Agglutination? — 3) Was ist das Verhältnis betreffend dieser Agglutination zwischen dem mütterlichen und dem fötalen Organismus?

Unsere Versuchsanordnung war folgende: Zu den Verdünnungen von 1:50, 1:100 und 1:200 des Retroplazentar- und Nabelschnurblutes gaben wir von 24stünd. Agarkultur bereitete Emulsionen verschiedener Bakterien, hielten sie 2 Std. im Thermostat bei 37°, um nach 20stünd. Stehen bei Zimmertemperatur die Agglutination mittels Lupe abzulesen. Sämtliche Bakterienstämme wurden in jedem Falle auch in physiol. NaCl-Lösung zwecks Untersuchung der Autoagglutination suspendiert. Nur in dem Falle, wo mittels Lupe eine ausgeprägte Agglutination und zwischen den agglutinierten Bakterienklumpen eine klare Flüssigkeit zu sehen war, betrachteten wir die Agglutination als positiv.

Zu unseren Versuchen verwendeten wir 6 Y-Stämme. Außerdem wurde noch die Agglutination vom Shiga--Kruse-, Flexner- und Typhusbazillus untersucht. Im ganzen verarbeiteten wir 120 Sera. Die prozentualen Resultate unserer Untersuchungen sind in folgender kleinen Tabelle zusammengefaßt:

Tabelle I.

Bakterienstämme	Wieviel Prozente der							
	Retroplazentarsera				Nabelschnursera			
	agglutinierte nicht einmal in 1:50 Verdünnung	agglutinierte in Verdünnung			agglutinierte nicht einmal in 1:50 Verdünnung	agglutinierte in Verdünnung		
		1:50	1:100	1:200		1:50	1:100	1:200
Shiga-Kruse	100	—	—	—	85	15	—	—
Flexner	75	25	—	—	96	4	—	—
Typhus	85	15	—	—	85	15	—	—
„Y 511“	83	17	—	—	95	5	—	—
„Y 961“	82	16	2	—	98	2	—	—
„Y 371“	2	10	47	41	73	25	2	—
„Y 10499“	29	29	19	23	90	10	—	—
„Y 359“	85	15	—	—	100	—	—	—
„Y 78“	74	10	8	8	95	5	—	—

Aus dieser Tabelle zeigt es sich klar, daß keines der untersuchten Retroplazentar- bzw. Nabelschnurblutsera in 1:100 Verdünnung den Shiga-Kruse-, Flexner- und Typhusbazillus agglutiniert. Der größte Teil der untersuchten Nabelschnurblutsera zeigte mit den Y-Stämmen schon in 1:50 Verdünnung keine Agglutination, ein kleiner Teil derselben agglutinierte sie in einer Verdünnung von 1:50, und im ganzen agglutinierten nur 2 Sera den „Y 371“-Stamm auch in 1:100 Verdünnung.

Die Retroplazentarsera verhielten sich den verschiedenen Y-Stämmen gegenüber verschieden. Der größte Teil der Retroplazentarsera agglutinierte die „Y 359“- und „Y 511“-Stämme selbst in 1:50 Ver-

dünnung nicht, wogegen ein beträchtlicher Teil derselben die „Y 371"- und „Y 10499"-Stämme sogar in 1:100 bzw. 1:200 Verdünnung agglutinierte.

Aus der Tabelle ergibt sich 1), daß die Retroplazentarsera die Y-Stämme in viel größerem Prozentsatz und in viel stärkerer Verdünnung agglutinieren, als die Nabelschnurblutsera; 2) zeigt sich, daß zwischen den einzelnen Y-Stämmen ein großer Unterschied bezüglich ihrer Agglutination durch Retroplazentarsera besteht.

Unsere Versuche bestätigen demnach die Ergebnisse von Loewenthal, Bertkau und Hausherr mit dem Zusatze, daß nicht jeder Y-Stamm agglutinierbar ist.

Wir richteten unsere Aufmerksamkeit auch auf den feineren Mechanismus dieser Agglutination. Vor allem untersuchten wir, ob nicht ein im Blutserum befindliches Agglutinin die Ursache dieser phys. Agglutination sei. Ueber diese Frage entschieden wir folgendermaßen: Zum Retroplazentar- und Nabelschnurblut mengten wir Y-Bazillen, ließen 3 Std. im Thermostat stehen, um nach Eintritt der Agglutination die agglutinierten Bakterien stark abzuzentrifugieren. Das klare Serum wurde abgegossen, die agglutinierten Bakterien mittels physiol. NaCl-Lösung 3mal gewaschen und zentrifugiert, um womöglich die letzten Spuren des Blutserums zu entfernen. Nachher gaben wir zu den agglutinierten Bakterien so viel physiol. NaCl-Lösung, daß ihr ursprüngliches Volumen erreicht wurde und stellten sie auf 15 Min. in ein 45° Wasserbad. Auf diese Weise trachteten wir, die vorausgesetzten Agglutinine von den agglutinierten Bakterien abzuspalten. Nach 15 Min. wurde wieder stark zentrifugiert und die über den am Grunde der Eprouvette befindlichen Bakterien stehende Flüssigkeit auf ihren Agglutinationsgehalt, wie folgt, untersucht: Zu verschiedenen Verdünnungen dieser Flüssigkeit mischten wir Y-Bazillen und nach 3stünd. Stehen im Thermostat lasen wir die eventuell eingetretene Agglutination ab. Diese zeigt an, daß es gelungen ist, Agglutinin abzuspalten und daß dieses abgespaltene Agglutinin die 1. und nachher auch die 2. Agglutination verursachte. Dieser Versuch wurde in vielen Fällen mit den Retroplazentar- und auch mit den Nabelschnurseren angestellt, und in allen Fällen gelang es uns, von den ursprünglich agglutinierten Bakterien Agglutinin abzuspalten (experimentelle Beispiele siehe Aviditätsversuche).

Aus diesen Versuchen zeigt sich ganz unzweifelhaft — im Gegensatz zur Ansicht obengenannter Autoren — daß die physiol. Agglutination des Y-Bazillus durch das im Retroplazentarblut befindliche, den Y-Bazillus agglutinierende Agglutinin verursacht wurde; und daß dasselbe, zwar seltener und in geringerer Intensität, im Nabelschnurblut auch der Fall ist.

Nachher untersuchten wir die Eigenschaften dieser im Retroplazentar- bzw. Nabelschnurblut nachgewiesenen Agglutinine, ferner ob sie identisch seien, oder ob, abgesehen von quantitativen Verhältnissen, auch qualitative Unterschiede unter ihnen nachweisbar seien.

Vor allem stellten wir Aviditäts- und Absorptionsversuche an, von denen wir 2 als Beispiel folgen lassen:

I. Der Stamm „Y 371" wurde durch das Retroplazentar- bzw. Nabelschnurblut Nr. 181 agglutiniert und deren Titer exakt bestimmt.

Das Nabelschnurblut agglutinierte den „Y 371“ in 1:40, das Retroplazentarblut in 1:300 Verdünnung. Das retroplazentare Blutserum wurde mittels physiol. NaCl-Lösung auf das 7,5fache verdünnt, so daß 1 ccm des Nabelschnurblutes und nun auch des Retroplazentarblutes je 40 Agglutinineinheiten (AE.) enthielt. Zu je 1,4 ccm (56 AE.) des Nabelschnurblutserums und des verdünnten retroplazentaren Blutserums wurden nun 2—2 Oesen „Y 371“ gemischt und nach 3stünd. Aufenthalt im Thermostat stark abzentrifugiert und das über den Bakterien befindliche Retroplazentar- (RS.) bzw. Nabelschnurserum (NS.) abgegossen. Nun wurden die agglutinierten Bakterien mittels physiol. NaCl-Lösung gewaschen und in bereits angegebener Weise behandelt, schließlich die Agglutinine mittels Digestion bei 45° abgespalten. Die über den Bakterien befindliche Flüssigkeit, welche die im Retroplazentarserum befindlichen Agglutinine (RA.) resp. im Nabelschnurserum befindlichen Agglutinine (NA.) enthält, wurde abgegossen.

Nach den auf diese Weise gewonnenen Fraktionen (RS., NS., RA., NA.) wurden Verdünnungen bereitet, in welchen wir wieder den „Y 371“ suspendierten. Mittels der anfangs gewonnenen 2 Agglutinationsresultate und der jetzt gewonnenen 4 Resultate bestimmten wir den Absorptions- und Aviditätskoeffizienten.

Unter Absorptionskoeffizienten verstehen wir das Verhältnis der absorbierten Immunkörper zu den anfangs zur Verfügung stehenden Immunkörpern, welches wir durch $\frac{a-b}{a}$ ausdrücken können, wo „a“ die im Serum ursprünglich befindliche Immunkörpermenge (AE.), „b“ die im Serum nach der 1. Agglutination zurückbleibende Antikörpermenge (in diesem Falle RS. resp. NS.) bedeuten.

Unter Aviditätskoeffizienten verstehen wir das Verhältnis der vom Antigen abgespaltenen Immunkörper zu den durch das Antigen absorbierten, welches wir durch $\frac{c}{a-b}$ ausdrücken können, wo „c“ die vom Antigen abspaltbare Menge des Immunkörpers (in diesem Falle den Agglutinationswert der RA.- und NA.-Flüssigkeiten) bedeutet.

In unserem Falle Nr. 181 enthielt jeder Kubikzentimeter des Nabelschnurserums und des auf das 7,5fache verdünnten Retroplazentarserums 40 AE. Zu unseren Versuchen gebrauchten wir 1,4 ccm Serum, d. i. 56 AE. (a).

Die Agglutinationswerte der eingangs erwähnten 4 Fraktionen sind folgende:

$$\left.\begin{matrix} \text{RS.} = 1:6 \\ \text{NS.} = 1:32 \end{matrix}\right\}_b \qquad \left.\begin{matrix} \text{RA.} = 1:6 \\ \text{NA.} = 1:24 \end{matrix}\right\}_c$$

So ist der Absorptionskoeffizient des Nabelschnurblutes: 0,428, der Aviditätskoeffizient: 1,0; der Absorptionskoeffizient des Retroplazentarblutes: 0,892, der Aviditätskoeffizient: 0,12.

Aus diesen Versuchen zeigt sich, daß die Bakterien aus dem retroplazentaren Serum eine bedeutend größere, ungefähr die doppelte Menge Agglutinin binden können, als aus dem Nabelschnurserum,

und daß die gebundenen retroplazentaren Agglutinine in viel festere Bindung zu den Bakterien treten, als die entsprechenden Agglutinine des Nabelschnurserums [ungefähr 8mal stärkere Bindung, siehe Aviditätskoeffizient[1])].

II. Nabelschnurblut Nr. 298 und das entsprechende Retroplazentarblut. Agglutinationstiter des Nabelschnurblutes gegen Stamm „Y 371" = 1:20. Der Agglutinationstiter des Retroplazentarblutes gegen Stamm „Y 371" = 1:300. Wir verdünnten das Retroplazentarserum auf das 15fache und verfuhren in gleicher Weise wie bei Fall I. Es wurde mit 1 ccm Serum gearbeitet (AE. = 20 = a).

RS. = 1:4 } b
NS. = 1:10 }
RA. = 1:2 } c
NA. = 1:4 }

So ist der Absorptionskoeffizient des Nabelschnurblutes: 0,5, der Aviditätskoeffizient: 0,4; der Absorptionskoeffizient des Retroplazentarblutes: 0,8, der Aviditätskoeffizient: 0,12.

Auch aus diesen Zahlen zeigt sich, daß das Absorptions- und Aviditätsvermögen mit den Agglutininen des Retroplazentarblutes stärker ist als mit den entsprechenden Agglutininen des Nabelschnurblutes.

Landsteiner und Reich[2]) erbrachten den Beweis, daß die Avidität der Normalagglutinine kleiner ist als die der Immunagglutinine. Nach Müller[3]) erhöht sich während der Immunisierung mit dem Steigen des Serumtiters auch die Avidität der Agglutinine.

Aus diesen Beispielen zeigt sich klar, daß dem höheren Agglutinintiter des Retroplazentarserums eine stärkere Avidität entspricht; es zeigt sich also derselbe Unterschied, wie im allgemeinen zwischen Normal- und Immunagglutininen. Da wir in der uns zur Verfügung stehenden Literatur keinen Hinweis auf die Absorptions- und Aviditätsverhältnisse der Y-Agglutinine fanden, hielten wir es für angezeigt, Kaninchen mit „Y 371" zu immunisieren und die Absorptions- und Aviditätsverhältnisse 1) der im Blutserum des Kaninchens befindlichen Normalagglutinine, 2) der nach der Immunisierung auftretenden Immunagglutinine zu untersuchen. Vor der Immunisierung entnahmen wir dem Tiere Blut und spritzten 1 Oese „Y 371" subkutan ein. Das 9 Tage nach dieser Impfung entnommene Blut wurde nach der bereits erwähnten Methode untersucht.

Vor der Immunisierung:
Agglutinationstiter: 1:40 (AE. = 40 = a)
b: 1:16
c: 1:8

1) Die stärkere Bindung der Agglutinine des retroplazentaren Serums zeigte sich sehr schön beim Waschen der agglutinierten Bakterien mit physiol. NaCl-Lösung und beim Zentrifugieren derselben. Es gelang uns nicht, die durch das retroplazentare Serum agglutinierten Bakterienklümpchen gleichmäßig zu emulgieren, so daß dieselben auch in physiol. NaCl-Lösung eine gut wahrnehmbare Agglutination zeigten und leicht zentrifugierbar waren, im Gegensatz zu den durch das Nabelschnurblut agglutinierten Bakterien, welche leicht zu emulgieren und schwer zu zentrifugieren waren.

2) Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 39. S. 722.

3) Kraus-Levaditis Handbuch. 1. Erg.-Bd. S. 1.

Nach der Immunisierung:

Agglutinationstiter: 1:400. 10fach verdünnt enthält jeder ccm 40 AE. (a = 40)
b: 1:4
c: 1:5

	Absorptions-koeffizient	Aviditäts-koeffizient
Vor der Immunisierung	0,65	0,30
9 Tage nach der Immunisierung	0,9	0,13

Aus diesen Zahlen ergibt sich mit voller Bestimmtheit, daß die Immunagglutinine sich von den Normalagglutininen bezüglich ihrer Absorptions- und Aviditätseigenschaften unterscheiden und diese Unterschiede mit jenen zwischen den Agglutininen des Retroplazentar- und Nabelschnurblutes übereinstimmen.

Wir wissen, daß Normalagglutinine gegen Wärme empfindlicher sind, als Immunagglutinine[1]). Bei bestimmter Temperatur lassen sich Normalagglutinine inaktivieren, Immunagglutinine jedoch nicht. Deshalb hielten wir es für angezeigt, zu untersuchen, ob zwischen den Agglutininen des Retroplazentarserums und denen des Nabelschnurserums solch ein Unterschied bezüglich des Verhaltens gegen Wärme nachweisbar sei. Ein Teil des Retroplazentar- und des Nabelschnurserums wurde $^1/_2$ Std. im 56° Wasserbad gehalten, der andere Teil jedoch nicht. Nach dem Inaktivieren wurden von beiden Teilen der Sera — vom aktiven und auch vom inaktiven Teil — gleiche Verdünnungsreihen bereitet und aus einem 24stünd. „Y 371"-Stamm bereitete Emulsion hinzugefügt. Die Agglutination wurde nach 1stünd. Stehen im Thermostat und 20stünd. bei Zimmertemperatur abgelesen.

Auf diese Weise wurden 26 Retroplazentar- und 17 Nabelschnursera mit folgendem Resultate untersucht: Unter Einfluß der Hitze verloren von den 26 Retroplazentarseren bloß 2 Sera ihre Agglutinationsfähigkeit, 16 Sera blieben gänzlich unbeeinflußt und 8 änderten kaum wahrnehmbar ihren Agglutinationstiter.

Demgegenüber verloren von den untersuchten 17 Nabelschnursera 16 Sera gänzlich ihre Agglutinationsfähigkeit, bloß 1 Serum büßte seine Agglutinationsfähigkeit nur teilweise ein.

Aus diesen Versuchen zeigt sich der Unterschied zwischen den Y-Agglutininen des Retroplazentarblutes bezüglich ihrer Hitzebeständigkeit in ziemlich augenscheinlicher Weise. Ferner läßt sich gut nachweisen, daß die Agglutinine des Retroplazentarserums sich gegen Hitze wie Immunagglutinine, die des Nabelschnurserums sich jedoch wie Normalagglutinine verhalten.

Ferner stellten wir Versuche an, um zu entscheiden, ob es sich bei den Agglutininen des Retroplazentar- bzw. Nabelschnurserums um Immunagglutinine handelt. Zu diesem Zwecke mengten wir zu beiden Sera eine andere Bakterienemulsion, und nach 2stünd. Stehen im Thermostat zentrifugierten wir die Bakterien ab. In das reine, über den Bakterien sich befindliche Blutserum wurden wieder dieselben Bakterien emulgiert und nach 2stünd. Stehen im Thermostat abzentrifugiert. Dieses Verfahren wurde 3mal wiederholt. Aus den ursprünglichen und so behandelten Seren wurden Agglutinationsreihen bereitet

1) So z. B. Rodet, Eisenberg, Ludka, Landsteiner u. Reich, D. Acél.

und die Agglutinationsfähigkeit der Sera gegen „Y 371" und die anderen Bakterien untersucht.

Von diesen Versuchen lassen wir ein Beispiel folgen: Das im Versuche vorkommende Retroplazentar- und Nabelschnurserum wurde mit Paratyphus B-Bazillus behandelt. Ursprünglich agglutinierte das Nabelschnurserum den Bazillus in 1:20 Verdünnung, das Retroplazentarserum hingegen in 1:40 Verdünnung. Beide Sera wurden in eben erwähnter Weise 3mal mittels Paratyphus B-Bazillus behandelt und verloren gänzlich ihre Agglutinationsfähigkeit gegen den Paratyphus B-Bazillus. Zu gleicher Zeit änderte sich ihre Agglutinationsfähigkeit gegen den Y-Bazillus folgendermaßen (Tabelle II):

Tabelle II.

Verdünnungen	Das Nabelschnurserum agglutinierte den Y-Bazillus nach			
	im ursprünglichen Zustand	einmaliger Behandlung mit Paratyphus B	zweimaliger Behandlung mit Paratyphus B	dreimaliger Behandlung mit Paratyphus B
1:5	+	+	±	0
1:10	+	+	±	0
1:20	+	±	0	0
1:40	±	0	0	0

Verdünnungen	Das Retroplazentarserum agglutinierte den Y-Bazillus nach			
	im ursprünglichen Zustand	einmaliger Behandlung mit Paratyphus B	zweimaliger Behandlung mit Paratyphus B	dreimaliger Behandlung mit Paratyphus B
1:50	+	+	+	+
1:100	+	+	+	+
1:200	+	+	+	+
1:250	+	+	+	+
1:400	+	+	+	+
1:500	0	0	0	0

Aus diesen Daten ersehen wir, daß das Nabelschnurserum seine Agglutinine nach Behandlung mit dem Paratyphus B-Bazillus verliert, das Retroplazentarserum sie jedoch ganz unvermindert behält. Mit anderen Worten läßt sich das auch so ausdrücken, daß die Agglutinine des Retroplazentarserums spezifische, die des Nabelschnurblutes nichtspezifische Agglutinine sind. Also bestehen zwischen den Agglutininen des Retroplazentarserums und denen des Nabelschnurserums auch qualitative Unterschiede.

Aus allen diesen Aviditäts-, Absorptions-, Spezifizitäts- und Inaktivierungsversuchen zeigt sich vollkommen klar, daß die Y-Agglutinine des retroplazentaren Blutserums sich von den Y-Agglutininen des Nabelschnurblutserums nicht nur quantitativ, sondern auch qualitativ unterscheiden. Die Y-Agglutinine des Retroplazentarblutes verhalten sich wie sog. spezifische Immunagglutinine, hingegen sind die Y-Agglutinine des Nabelschnurblutes mit den sog. Normalagglutininen identisch.

Wir erachten es als wichtig und heben es hervor, daß unter physiol. Umständen ohne spezifischen Reiz sich Agglutinine mit den Eigenschaften der spezifischen Immunagglutinine bildeten.

Ferner läßt sich aus diesen Versuchen mit großer Klarheit nachweisen, daß der mütterliche und der fötale Organismus bezüglich der Y-Agglutinne sich abweichend verhalten. Das im mütterlichen Organismus sich bildende Y-Agglutinin unterscheidet sich nicht nur quantitativ, sondern auch qualitativ vom Y-Agglutinin des fötalen Blutes. Das im mütterlichen Organismus infolge der Schwangerschaft auftretende Y-Agglutinin dringt nie durch die Plazenta in den fötalen Organismus. Dies bestätigt die Meinung derer, die sagen, daß die Mutter und der Fötus bezüglich der Immunkörper sich wie zwei abgesonderte Individuen verhalten.

Nachdruck verboten.

Zur Frage der Spaltbarkeit des syphilitischen Antigen-Serum-Aggregates.

Von **August von Wassermann.**

Prausnitz und M. Stern kommen auf Grund ihrer sorgfältigen Untersuchungen[1]) zu dem Schluß, daß die Spaltbarkeit des WaR.-Aggregates durch meine Versuche nicht nachgewiesen sei, sondern eventuell bei der Filtration des aufgelösten Aggregates nur ein Ueberschuß von positivem Serum abfiltriert würde. Demgegenüber möchte ich darauf aufmerksam machen, daß dies bei meiner ursprünglichen Versuchsanordnung[2]) wohl ausgeschlossen sein dürfte. Denn ich arbeitete bei denjenigen Versuchen, in welchen ich die Möglichkeit einer Spaltung des Aggregates nachweisen wollte, in der Art, daß ich zunächst das Aggregat durch Zusatz von destilliertem Wasser nach dem Vorgang von Meinicke ausfällte. Alsdann zentrifugierte ich diesen Niederschlag ab, und da ich mir den gleichen Einwand machte, wie dies mit Recht Prausnitz und Stern tun, wusch ich den Niederschlag mehrmals mit destilliertem Wasser, um jeden Rest von etwa noch anhaftendem Serum zu entfernen, was ich ausdrücklich in meiner Arbeit hervorhob. Erst dieses gewaschene, vom Serumüberschuß befreite Aggregat wurde dann durch eine 1,7proz. Kochsalzlösung in Lösung gebracht und nunmehr mittels der de Haenschen Filter in seine Komponenten zerlegt. Bei dieser Versuchsordnung ist es also ganz ausgeschlossen, daß die positive Reaktion des ablaufendes Filtrates durch einen am Aggregat noch vorhandenen Ueberschuß des Ausgangsserums bedingt wird. Ich habe auch die eigentlichen Versuche für die Bestätigungsreaktion mit syphilitischem Menschenserum in der gleichen Art und Weise, d. h. unter Ausfällung des spezifischen Aggregates und nachherigem Waschen des Niederschlages, ausgeführt; doch habe ich

1) Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 90. H. 4.
2) Berl. klin. Wochenschr. Bd. 58. S. 194.

diese Versuchsanordnung in meiner späteren Arbeit mit Citron fallen gelassen, da sie mir für die Praxis zu umständlich erschien. Die Resultate mit derselben waren, wie das kleine beifolgende Versuchsprotokoll, aus vielen ausgewählt, zeigen möge, sehr beweisend.

Protokoll (30. 3, 20).

Es wurden positive Menschensera gemischt, zur WaR. angesetzt, dann zentrifugiert. Die obenstehende Flüssigkeit (rosa) wurde aufs 4fache mit Aqua dest. verdünnt und 24 Std. in den Brutschrank bei 37° gestellt; hatte gut geflockt, wurde zentrifugiert, der Bodensatz gewaschen und in 1,7proz. NaCl ($^1/_4$ Teil der Ausgangsserummenge) suspendiert und gelöst.

Versuch mit der Lösung des Niederschlages:

WaR. ++++ ohne Antigen,
WaR. ++++ mit Antigen;

durch Zsigmondy-Filter 303 filtriert:

Filtrat plus Antigen:	Filtrat ohne Antigen:
WaR. ++++	WaR. negativ

Der gleiche Versuch wurde mit negativem Menschenserum angesetzt. Der nach Versetzen mit Aqua dest. entstandene Bodensatz wie oben in 1,7proz. NaCl suspendiert. Geprüft vor und nach Filtration:

WaR. negativ. Kontrolle negativ.

Die Möglichkeit, das Aggregat, syphilitisches Serum-Antigen, wieder in seine Komponenten zu zerlegen, ist also wohl zweifelfrei nachgewiesen.

Nachdruck verboten.

Untersuchungen über den Erreger der ägyptischen Augenentzündung (Koch-Weekssches Bakterium) und seine Beziehungen zum Pfeifferschen Influenzabazillus.

[Aus der Staatlichen Bakteriologischen Untersuchungsanstalt Erlangen (Geheimrat Prof. Dr. Heim, Prof. Dr. W. Weichardt).]

I. Mitteilung.

Von Privatdozent Dr. med. **Maximilian Knorr,** Oberarzt der Anstalt.

Mit 3 Abbildungen im Text.

Dem Koch-Weeksschen Bakterium ist in den bakteriologischen Zeitschriften und Lehrbüchern nur wenig Beachtung geschenkt worden. Erst in den letzten Jahren gab das gehäufte Auftreten der typischen Bindehauterkrankungen Anlaß zu zahlreicheren Veröffentlichungen besonders im augenärztlichen Schrifttum. Von hygienischer Seite wurde der Erkrankung geringe Bedeutung beigelegt, sonst hätten die Arbeiten von Rymowitsch[1]), Jundell, Wibo, v. Nestlinger u. a., die

1) Literaturangaben finden sich in dieser Arbeit nur dann, wenn sie in meinem Bericht „Das Koch-Weekssche Bakterium und der Pfeiffersche Influenzabazillus" in Weichardts Ergebnissen, Bd. 6, S. 350 nicht angeführt sind.

auf die Artgleichheit des Koch-Weeks-Bazillus mit dem Influenzabazillus hinwiesen, in den zahlreichen Influenza-Arbeiten der letzten Jahre sicherlich Erwähnung gefunden. Auch die anregende Zusammenfassung Axenfelds im Jahre 1912, in der die Frage der Stellung des Koch-Weeks-Bazillus zum Influenzabazillus unter Hervorhebung strittiger Punkte erörtert wurde, hat erst in den letzten Jahren zu experimentellen Arbeiten nach dieser oder jener Richtung geführt.

Bei diesem Stande der Forschung und angeregt durch die neuesten serologischen Ergebnisse Schneiders haben Herr Privatdozent Dr. Wißmann, Herr Dr. W. Gehlen und ich es unternommen, die bereits 1921 in Erlangen aufgetretene „Augengrippe" in den Jahren 1922—1924 nach den verschiedenen Richtungen hin zu bearbeiten. Ueber dieses Thema wird auch in der Monatsschrift für Augenheilkunde berichtet, wo Fragen mit mehr augenärztlichem Interesse behandelt werden. Dort wird auch die Entnahme von Bindehautsekret mittels steriler Seidenfäden, die sich mir zur schnellen und sicheren Züchtung der Keime bewährt hat, besprochen werden.

I. Morphologische Vorbemerkungen.

1) Die Diagnose „Koch-Weekssche Bindehautentzündung" auf Grund des Sekretausstriches.

Zahlreiche Autoren glauben, auf Grund des gefärbten Originalausstriches entscheiden zu können, ob eine Bindehautentzündung durch den Koch-Weeks- oder durch den Influenzabazillus hervorgerufen ist. Dem Koch-Weeks-Bazillus wird eine typische, schlanke Form zugesprochen, während der Influenzabazillus kürzer und dicker, „kokkobazillenähnlich", sein soll. Außerdem sollen die Influenzabazillen in Sekretausstrichen fischzugartig angeordnet sein. Diese Behauptung ist nicht unwidersprochen geblieben (Jundell u. a.); die Entscheidung lediglich auf Grund eines Originalausstriches wird von manchen Autoren nicht gebilligt.

Wir haben Ausstriche angefertigt, die nach Alkoholfixierung und Gramscher Färbung mit Karbolfuchsin nachgefärbt wurden. Wir können unsere Beobachtung folgendermaßen zusammenfassen:

In der Mehrzahl der Ausstriche war anscheinend nur die typische schlanke Form vorhanden. Immerhin fanden sich hie und da nach weiterem Suchen oft Stellen, die zu Zweifel Anlaß boten, worauf schon L. Heim bei Beschreibung eines Lichtbildes (Ausstrich von Axenfeld) hinwies: „Die wenigen vorhandenen Stäbchen kommen an Kleinheit mehr den Influenzabazillen nahe." Bilder, wie ich eines in Weichardts Ergebnissen mit typischer fischzugartiger Anordnung plumper Stäbchen gebracht habe, führten mich zu der Ansicht, daß es unmöglich ist, auf Grund der Form und Anordnung im Originalausstrich eine sichere Unterscheidung zu treffen, zumal vom gleichen Fall in 77 Generationen nur typisch schlanke Koch-Weekssche Stäbchen angingen. Auch klinisch war kein Zweifel, daß eine Koch-Weekssche Bindehautentzündung vorlag.

2) Die Form der Koch-Weeksschen Bazillen und Influenzabazillen in Ausstrichen aus Kulturen.

Levinthal und Fernbach haben gezeigt, daß wir bei Influenzabazillen 4 Typen unterscheiden müssen. Typ I die kokkobazilläre Form, Typ II Stäbchen,

deren Längenausdehnung die Breite übertrifft. Es kommen auch fädige Gebilde vor. Typ III extremer Pseudo-Influenzabazillus — von winzigen Gebilden bis zu phantastischen Fäden und Schleifen. Ein IV. Typ unterscheidet sich u. a. auch durch Hämolyse von den anderen Typen. Ich habe bis jetzt nicht Gelegenheit gehabt, diesen und einen entsprechenden Typ des Koch-Weeksschen Keimes zu untersuchen, im übrigen aber die Angaben Levinthals und Fernbachs bestätigen können, vor allem in der Hinsicht, daß nach genügend langer Beobachtung die Zusammengehörigkeit der Typen sich leicht erweisen läßt (Pfeiffer, Lubinski u. a.).

Im folgenden werden nur Typ I—III der Influenzabazillen mit den entsprechenden Typen der Koch-Weeksschen Bazillen verglichen.

Auf die Vielgestaltigkeit der Keime, auf die Abhängigkeit ihrer Form vom Nährboden, insbesondere seiner Reaktion, von der Dauer der Bebrütung usw., haben besonders Kristensen, Reed und Orr (dort auch gute Abbildungen) hingewiesen. Ich konnte zeigen, daß Züchtung von Koch-Weeksschen Bazillen unter 30 oder über 38° zur Bildung enorm langer Fäden führt. Auch unter anaëroben Bedingungen überwiegt die Neigung, lange Verbände zu bilden. Bei all diesen Versuchen blieb die Gestalt bei Typ I der im folgenden zu besprechenden Stämme der Koch-Weeks-Bazillen und in der Mehrzahl auch der Influenzabazillen konstant. Besonders auffällig ist die Pleomorphie beim sog. Ammenwachstum. Die beiden Lichtbilder geben darüber Aufschluß (Fig. 1, 2).

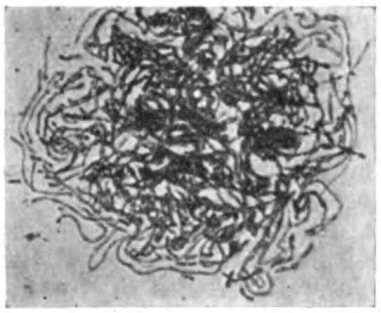


Fig. 1.

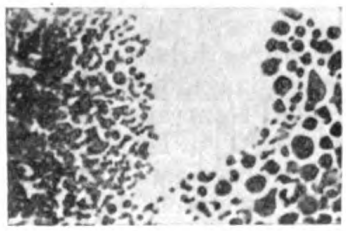


Fig. 2.

Fig. 1. Klatschpräparat einer 48stünd. Influenzabazillenkolonie mit Fuchsin gefärbt. 1000×. Ammenversuch nach Knorr. Unterschicht Staphylokokkenagar, Oberschicht $1^1/_4$proz. Nähragar.

Fig. 2. Klatschpräparat von zwei 48stünd. Kolonien desselben Stammes wie in Fig. 1, mit Fuchsin gefärbt. 1000×. Ammenversuch nach Knorr. Unterschicht Levinthal-Agar + Pergamentpapier, Oberschicht $1^1/_4$proz. Wasseragar.

So wäre an und für sich die Möglichkeit, daß die Koch-Weeks-Bazillen in verschiedenen Typen wachsen, nichts besonderes, wenn nicht ihr Auftreten gerade in den ersten Generationen vom Körper weg so auffallend und in einer manchmal sehr großen Anzahl von Fortführungen konstant wäre.

Die Untersuchungen von v. Nestlinger, Pichler, Wiedersheim und Schneider über die Koch-Weeks-Bindehautentzündung haben ergeben, daß wir auch hier 3 gestaltlich unterscheidbare Typen züchten können: Zunächst die am häufigsten vorkommende schlanke Form, die allgemein als typischer Koch-Weeksscher Bazillus angesprochen wird und m. E. dem Typ II der Influenzabazillen

Levinthals und Fernbachs entspricht, dann die seltenere kokkobazilläre Form, die sich nicht im geringsten vom gewöhnlichen Typ I der Influenzabazillen unterscheidet, endlich eine extreme langfädige Form (Typ III), die sehr selten zu sein scheint und einmal von Schneider und zweimal von uns bei klinisch sicheren Fällen beobachtet wurde.

Die Möglichkeit, daß es sich bei den gefundenen Typen um verschiedene Arten handelt, liegt kaum vor, denn wir fanden bei Angehörigen einer Familie alle 3 Typen gleichzeitig, und auch die sonstigen, bei hämoglobinophilen Keimen möglichen Differenzierungen reichten, wie in der Arbeit weiterhin gezeigt werden soll, nicht aus, um daraufhin besondere Arten zu begründen. Wie Schneider, glauben wir nicht, daß im Sekret etwa 2 Arten vorhanden gewesen seien, z. B. ein kokkobazillärer Influenzabazillus und der typische Koch-Weeks-Bazillus. Im allgemeinen hielten die Typen an ihrer Form eine größere Anzahl von Generationen hindurch fest, und es war auch nicht möglich, bei Abimpfungen verschiedener Kolonien verschiedene Typen zu erhalten. Hierzu kommt, daß wir in 2 akuten Fällen bei den ersten Abimpfungen Typ II feststellen konnten, bei der zweiten Abimpfung einige Zeit später nur Typ I fanden. Auch haben wir öfters, einmal sogar durch 53 Generationen, die bei Aussaaten oft auftretenden großen und kleinen Kolonien weitergeführt, ohne daß sich verschiedene Formen ergeben hätten.

Schon Schneider beobachtete in einem Fall, daß eine kurze Form später in eine typische umschlug und dann typisch blieb. Dieses Umschlagen eines Stammes haben wir zunächst an einem Stamm unseres Typ III festgestellt. Der Stamm blieb durch 28 Generationen auf erhitzten Meerschweinchenblutplatten und Levinthal-Schrägagar langfädig, so daß er stets mit Sicherheit erkannt wurde. In der 29. Generation schlug nun dieser Stamm auf beiden Nährmitteln zum Typ II um, weshalb sofort die 28. Generation nochmals ausgesät wurde, wiederum mit dem gleichen Erfolg. Dieser Stamm behielt in weiteren 117 Generationen die Form des Typ II bei. Vier kokkobazilläre Stämme, die von klinisch sicheren Fällen stammten, änderten in zahlreichen Ueberzüchtungen ihre Form nicht. In späteren Generationen konnten öfters auch diese Stämme weder als typisch schlank noch als kokkobazillär angesprochen werden. Es kam aber nicht selten vor, daß sie als Typ II bezeichnet wurden. In der nächsten Generation wurde unter Umständen schon wieder mit Sicherheit Typ I erkannt. Einmal (Nr. 1048) schlug nach ungefähr 70 Generationen ein kokkobazillärer Stamm in Typ II um und blieb auch in weiteren Fortführungen formkonstant. Der Typ II der Koch-Weeks-Bazillen war im allgemeinen formbeständiger. Ueberhaupt gewinne ich mehr und mehr die Ueberzeugung, daß die Neigung, nur zeitweise in einen anderen Typ umzuschlagen, eine individuelle Eigenschaft mancher Influenzabazillen- und Koch-Weeks-Bazillenstämme ist.

Der Typ I der Koch-Weeks-Bazillen kommt am häufigsten bei Säuglingen und Kindern vor; im Gegensatz zu Typ II scheint er für die Augenbindehaut weniger pathogen zu sein.

Um einen Ueberblick über die Form der Keime zu gewinnen, wurden und werden von sämtlichen angelegten Kulturen und Versuchen Ausstriche angefertigt und auf die Form hin durchgesehen.

So wurden nunmehr gegen 2000 Präparate untersucht. Es fand sich ein zeitweiser Uebergang von Typ I in II in ungefähr 4 Proz., von Typ II in I in ungefähr 0,5 Proz.; in etwa 3 Proz. konnte ich nicht unterscheiden, ob Typ I oder II vorlag, d. h. ob die Diagnose auf Influenza- oder Koch-Weeks-Bazillen zu stellen wäre.

Außer diesen Typen kommen in fast allen Präparaten Kugelformen vor, von denen ich nur das berichten kann, was Kristensen auch bei seinen eingehenden Studien an Influenzabazillenstämmen beobachtete. Der Durchmesser dieser Kugeln ist zumeist annähernd 0,5—1 μ. Beim Ammenwachstum sind sie mir in der Größe roter Blutkörperchen begegnet (Fig. 2). Man kann beobachten, wie ein Stäbchen in einzelne Kugeln zerfällt, ähnlich der Muchschen Granula beim Tuberkelbazillus. Da sich besonders in älteren Kulturen die Kugelformen häufen, wird es sich wohl um eine Degenerationserscheinung handeln.

Die kleinen Kugelformen nehmen die gebräuchlichen Farbstoffe besonders gierig auf, die größeren bedeutend schwächer, und eine wabige Struktur ist oft deutlich erkennbar. Mit Fuchsin, auch verdünntem, werden die kleinen Kugeln sehr dunkel gefärbt. Kristensen hat ferner eine geringe Säurefestigkeit gesehen.

Die Färbbarkeit mit verschiedenen 1proz. wässerigen Farblösungen nach $^1/_2$ Min. langer Einwirkung wurde an 9 Koch-Weeks-Bazillenstämmen von Typ II, 3 von Typ I, 1 von Typ III, 2 Influenzabazillenstämmen von Typ I und 2 von Typ II geprüft. Mit Methylviolett, Malachitgrün, Gentianaviolett, Fuchsin färbten sich alle Stämme gleich kräftig, bedeutend schwächer mit Safranin, Bismarckbraun und Chrisoidin. Manche Stämme nahmen die zuletzt genannten Farbstoffe überhaupt nicht an. Mit Giemsa-Lösung (1 Tropfen auf 2 ccm dest. Wasser) färben sich nach 1stünd. Einwirkung junge Keime dunkelviolett, ältere mit Andeutung von körniger Degeneration hellviolett.

In Kulturen mit Neigung zu Scheinfädenbildung findet man oft einen Faden verschieden stark gefärbt. Wir sehen Bilder, die denen bei anderen Arten mit Neigung zu teratologischen Wuchsformen völlig entsprechen. Polfärbung fand ich nur hie und da, besonders bei Methylenblaufärbung.

Reservestoffe waren, wie es bei der Zartheit und geringen Größe der Keime nicht anders zu erwarten war, nicht nachzuweisen.

Die Keime zeigen mehr oder weniger starke Molekularbewegung. Niemals gelang es, nach der Zettnowschen Vorschrift Geißeln zur Darstellung zu bringen. Kristensen läßt die Frage, ob Influenzabazillen beweglich seien oder nicht, wegen der starken Molekularbewegung noch offen. Es wäre ja auch nicht undenkbar, daß der Geißelapparat der kleinen Keime so fein ist, daß er nur durch besondere Methoden zur Darstellung gebracht werden kann. Vorläufig muß jedoch an der Unbeweglichkeit der Influenzabazillen wie Koch-Weeks-Bazillen festgehalten werden. Die Größenangaben schwanken sowohl für Influenzabazillen wie Koch-Weeks-Bazillen beträchtlich, was bei den zarten kleinen Stäbchen nicht verwunderlich ist. Ich habe die Keime, nach der Zettnowschen Geißeldarstellungsmethode versilbert, gemessen und fand eine Länge von durchschnittlich 1—3 μ und eine ungefähre Breite von 0,5 μ. Bei dem extrem langfädigen Koch-Weeks-Bazillenstamm fanden sich Fäden bis zu 60 μ

bei einer Breite von annähernd 1 μ. Lichtbilder zu der Morphologie der Koch-Weeks- und Influenzabazillen finden sich in meinem Berichte in Weichardts Ergebnissen.

Auch über die Kolonieform habe ich in Weichardts Ergebnissen an der Hand von Lichtbildern berichtet und gezeigt, wie auf verschiedenen Nährböden ein verschiedenes Wachstum der Influenza- und Koch-Weeks-Bazillen zustande kommt. Auf dem gleichen Nährboden zeigten jedoch immer Koch-Weeks- und Influenzabazillen das gleiche Aussehen. Die wenigen Andeutungen über die Kolonien im Schrifttum (Kamen, Luerssen, v. Nestlinger, Pesch, Dahmann) entbehren meist guter Photogramme. Ich habe auch die eigenen Photogramme mit denen im Schrifttum verglichen und kann so behaupten, daß Unterschiede in der Kolonieform zwischen Koch-Weeks- und Influenzabazillen nicht festzustellen sind. Neuerdings wurde beobachtet, daß sich manchmal Ausstriche von Koch-Weeks- und Influenzabazillen aus Kartoffelthyrodekutulren auf Levinthal-Agarplatten bei sehr üppigem Wachstum durch die Farbe unterscheiden. Die Influenzabazillenkolonien sind farblos, die Koch-Weeks-Bazillenkolonien grau. Da wir die Reinheit unserer Kartoffelthyrodekulturen bei jeder Generation durch Ausstreichen auf Levinthal-Agarplatten kontrollierten, haben wir bis jetzt schon 50mal die Farbe der Koch-Weeks- und Influenzabazillen verglichen und leider sehen müssen, daß der oben beschriebene Unterschied in der Farbe nicht konstant ist und ein Unterschied zwischen Influenzabazillen- und Koch-Weeks-Bazillenkolonien meist weder makroskopisch noch mikroskopisch festzustellen war. Genau so, wie die Form der Keime wechseln kann, kann nach unseren Beobachtungen auch die Form der Kolonien und ihr Aussehen hie und da Abweichungen von ihrem normalen Wachstum zeigen. Kristensen betont dies auch von den Influenzabazillenkolonien. Am häufigsten kommt als Abweichung die Kolonieform mit gelapptem Rand vor (Fig. 3).

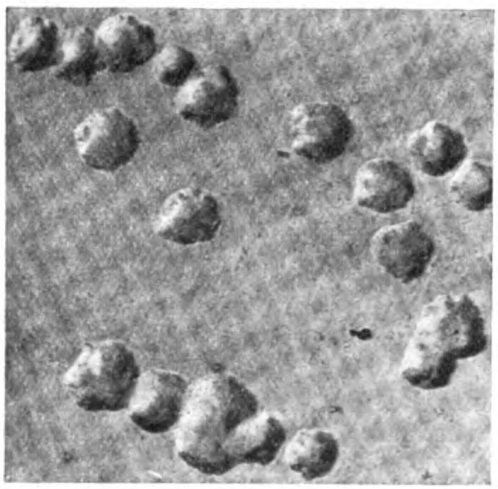


Fig. 3. (Aufnahme von L. Heim.)

Ich habe diese Kolonieform auch bei einem Stamm gesehen, der aus dem Bindehautsack einer an Altersstar leidenden Person stammte. Die Keime aus den in Fig. 3 dargestellten Kolonien waren in 1. und 2. Generation vom Typus III, in 3. Generation vom Typus II und in 4. Generation vom Typus I, in 20. Generation wieder Typus II. Die Kolonieform war nur bei direkter Aussaat vom Bindehautsack weg atypisch, später stets typisch.

Auf Levinthal-Platten sind Koch-Weeks- und Influenzakolonien bei üppigem Wachstum bis zu 3 mm groß. Sie sind fettigglänzend, erhaben, leicht abimpfbar, nicht fadenziehend. Ihr Rand ist glatt, im Innern erscheinen stets Körnelungen, die gegen die Mitte der Kolonie dichter und gröber werden. Der Rand ist frei von Körnelung. Diese äußerst auffallenden Körnelungen, die schildbuckel- und

warzenartig aussehen können, liegen im Nährboden und finden sich bei Influenza (Christensen u. Kristensen, Graßberger, Lindenthal) und Koch-Weeks-Stämmen in gleicher Weise. Ich habe geglaubt, daß diese Körnelungen, zumal bei älteren Kolonien, sehr bezeichnend sind, da mir Verwechslungen bei meinen früheren Untersuchungen nur mit einer Streptokokkenart des Auges, die ich deshalb als „granulierten Streptococcus" ansprach, unterliefen. Die in der Zwischenzeit mit Herrn Privatdozent Dr. Wißmann unternommenen Untersuchungen über die in der menschlichen Bindehaut vorkommenden Streptokokkenarten veranlaßten mich, viele Streptokokkenstämme auf Levinthal-Agar auf das Aussehen ihrer Kolonien zu prüfen, und ich fand bei manchen Stämmen Körnelungen, wenn auch nicht in der Form wie bei Influenza-Koch-Weeks-kolonien. Immerhin sind die Unterschiede nach 18 Std. oft recht gering und werden erst nach längerer Bebrütung deutlicher.

II. Serologische Untersuchungen.

a) Agglutination.

Die Normalagglutination, die bei den Influenzabazillen die Bewertung der spezifischen Agglutination oft stört oder einschränkt (Bieling u. Joseph. Bieling u. Weichbrodt, Lemm u. a.), tritt auch bei den Koch-Weeks-Bazillen auf (Luerssen, Schneider). Während es aber Luerssen sogar für möglich hält, auf Grund einer hohen Normalagglutination die Koch-Weeks-Bazillen von den nur schwach oder nicht normal agglutinierenden Influenzabazillen zu trennen, hat Schneider nie einen Titer über 1:100 bei Koch-Weeks-Bazillen beobachtet.

Ich benutzte zur Agglutination stets Kulturen von Hundeshagen- bzw Levinthal-Schrägagar, verrieb den Inhalt einer 1 mm-Oese an der Wand des Reagenzglases fein und schwemmte ab. Abgelesen wurde nach 2 Std. bei 37° zum ersten und nach weiteren 22 Std. bei Zimmertemperatur bzw. 37° zum zweiten Male mit Hilfe des Agglutinoskops von Kuhn-Woithe. Der Kürze halber sind im folgenden nur die 24stünd. Ablesungen verzeichnet. Durchwegs bedeutet ± Andeutung einer feinen Flockung, + deutliche feine Flockung, ++ grobe Flockung.

Zunächst wurde mit **Kochsalzlösung** (0,15—0,5—0,75 und 1,0-proz.) geprüft, ob 24 und 48stünd. Koch-Weeks- und Influenzabazillen der gleichen Generation spontan ausflockten. Dies war bei 12 typischen Koch-Weeks-Bazillenstämmen und 4 sicheren Influenzabazillenstämmen auch nicht andeutungsweise der Fall.

Die typischen Koch-Weeks-Bazillenstämme 4810, 4864, 6393 flockten nur schwach in 0,25- und 0,5proz. Kochsalzkonzentrationen aus. Der typische Koch-Weeks-Bazillenstamm 4977 verhielt sich jedoch ganz abweichend, flockte sofort stark in allen Kochsalzkonzentrationen aus und löste auch nach 24 Std. bei 37° nicht nach. Der Stamm zeigte auch in späteren Versuchen durchwegs Neigung zur Spontanagglutination, so daß geradezu von einer Stammeigenschaft gesprochen werden muß. (Siehe die gleiche Beobachtung Schneiders bei Koch-Weeks-Bazillen und die damit übereistimmenden von Bieling und Joseph bei Influenzabazillen.)

In weiteren Versuchen mit **Kaninchenserum** (Tab. I) sollte festgestellt werden, ob die Normalagglutination ihre Ursache im Serum habe, wie z. B. neuerdings Lemm annimmt, oder ob sie auch durch gewisse Eigenschaften der als Antigen benützten Kultur bedingt sei. Es ergab sich, daß die Normalagglutination mit Kaninchenserum weitgehend vom Alter der Kultur abhängig sein kann.

Tabelle I.

Prüfung auf Normalagglutination des Kaninchenserums 1:50, 1:100, 1:500, 1:1000

	sofort	n. 2 Std. 37°	n. 24 Std. 37°
K.W. 4612	−	−	**+**, −, −, −
	++, +, −, −	++, ++, +, −	++, ++, +, −
„ 4808	−	−	−
	+, +, −, −	++, +, −, −	++, ++, +, −
„ 4810	−	−	−
	++, +, −, −	++, ++, −, −	+, −, −, −
„ 4855	−	−	−
	++, +, −, −	++, +, −, −	+, −, −, −
„ 4861	−	**+**, **±**, −, −	**±**, **+**, **+**, **+**
	++, +, −, −	++, +, −, −	+, ±, −, −
„ 4864	−	**±**, **+**, **±**, **±**	**+**, **+**, **+**, −
	++, ++, +, −	++, ++, +, +	++, ++, ++, ++
„ 4903	−	−	−
	±, +, −, −	++, ++, −, −	++, +, −, −
„ 4939	−	−	**+**, **++**, −, −
	++, ++, −, −	++, ++, ++, ++	++, ++, ++, +
„ 4977	**±**, −, −, −	**±**, **±**, −, −	**+**, **+**, **+**, −
	++, ++, +, −	++, ++, +, +	++, ++, ++, ++
„ 4978	−	**++**, **±**, −, −	**++**, **+**, −, −
	+, +, −, −	++, ++, −, −	++, ++, −, −
„ 5078[1]	±, ++, −, −	+, ++, −, −	−, −, −, −
„ 6375	−	−	−
	−	−	−
„ 6593	−	−	−
	±, ++, −, −	++, ++, −, −	++, ++, −, −
„ 6636	−	−	−
	−	−	−
„ 6670	−	−	−
	−	−	−
„ 6756	−	−	−
	++, +, −, −	++, ++, −, −	++, ++, −, −
„ 6969	−	−	**±**, **±**, −, −
	+, +, −, −	++, +, −, −	++, +, −, −
„ 7724	−	**++**, **±**, −, −	**++**, **++**, −, −
	+, ±, −, −	++, ++, −, −	++, ++, +, −
Infl. W.L.	−	−	−
	−	−	−
„ 14	−	−	−
	−	−	−
„ 77	−	−	**+**, −, −, −
	−	−	−
„ 6718	−	−	−
	−	−	−

Die fettgedruckten Ergebnisse zeigen den Ausfall der Reaktion mit den gleichen Levinthal-Schrägagarkulturen nach nochmaliger 24stdg. Bebrütung des Stammes. Die unterstrichenen Nummern sind kokkoide K.-W.-Stämme (Typ I).

Während die 24stünd. Stämme typischer Koch-Weeks-Bazillen 4808, 4810, 4855, 4903, 6593, 6756 zeitweise auch bis zur Verdünnung 1:500 ausgeflockt wurden, zeigten die Stämme nach weiterer 24stünd. Bebrütung keine Spur von Flockung mehr. Die 48stünd. Kulturen der typischen Koch-Weeks-Stämme 4612, 4861, 4864, 4939, 4977, 4978, 6969, 7724 flockten ebenfalls bedeutend weniger aus als 24stünd. Wie weitere Untersuchungen zeigten, darf daraus nicht ohne weiteres geschlossen werden, daß 48stünd. Levinthal-Kulturen zur Agglutination am geeignetsten seien, denn manchmal waren 24- oder 72stünd. Stämme als Antigen besser zu gebrauchen. Die unspezifische Ausflockung ist hie und da in den niedrigeren Serumverdünnungen schwächer als in den höheren, was auch

1) Pleomorpher Koch-Weeks-Stamm (Typ III).

bei spezifischen Sera zu beobachten war. Sie nimmt nach 2 Std. 37° an Stärke häufig zu, bleibt aber bei einigen Stämmen auch konstant, um nach weiteren 22 Std. bei 37° nur selten nachzulösen.

Die kokkoiden Koch-Weeks-Bazillenstämme 6375, 6636, 6670 und die Influenzastämme W.L. 14, 77, 6718 neigten nicht zur Normalagglutination, zeigten sie aber manchmal (s. u. Tab. II). Durch diese Beobachtungen erscheint die vorher erwähnte Feststellung von Luerssen zwar erklärt, hält aber bei längerer Nachprüfung nicht stand, wie ja Luerssen schließlich selbst zugibt.

Die Flockung der Stämme 4861, 4864, 4977, die auch bei 48stünd. Stämmen selbst in hohen Verdünnungen nicht weicht, sondern bei 4861 sogar beträchtlich zunimmt, weist darauf hin, wie wir aus Tab. II ersehen können, daß auch die Generation bei der Normalflockung eine Rolle spielen kann.

Tabelle II.
Agglutination mit spez. K.W.- und Infl.-Serum.

	Serum hergestellt mit:				
	1	2	3	4	5
	10. 10. 22 1/8 Kult. 4861 3tg. iv. 22. 10. 22 1/2 Kult. 4861, 4612 48stdg. iv. 24. 10. 22 2 Kult. 4861, 4612 24stdg. iv. 30. 10. 22 1 Kult. 4808 24stdg. iv. 8. 11. 22 1 Kult. 4808 24stdg. iv.	10. 10. 22 1/2 Kult. 4808, 4810 3tg. iv. 20. 10. 22 1 Kult. 4808 3tg. iv. 24. 10. 22 1/2 Kult. 4808 3tg. iv. 30. 10. 22 3 Kult. 4810, 4939, 4808, 24stdg. iv. 8. 11. 22 2 Kult. 4808 24stdg. iv. 11. 11. 22 3 Kult. 4810, 4903, 4612 24stdg. iv.	3. 9. 22 1/2 Kult. 4612 24stdg. iv. 7. 9. 22 1 1/2 Kult. 4612, 4864, 4903 72stdg. iv.	24. 10. 22 1 Kult. 4808 24stdg. iv. 1. 11. 22 3 Kult. 4808 24stdg. iv. 11. 11. 22 4 Kult. 4808 24stdg. iv.	Hergestellt mit Influenzastamm W.L. (Dr. Levinthal)
	Entblutet 18. 12. 22	Entblutet 11. 12. 22	Entblutet 22. 11. 22	Entblutet 16. 12. 22	
4612	1500 +	1000 +	1000 +	1500 ±	normal
4808	1500 ±	1000 ±	1000 ++	1500 ±	negativ
4810	1500 +	2000 ±	500 ++	negativ	„
4855	1000 ±	1000 +	2000 ++	100 +	„
4861	1500 +	1000 +	2000 ++	100 +	„
4864	1500 +	1000 +	1000 +	1500 ±	„
4903	1500 +	500 +	2000 +	1500 ±	„
4939	normal	2000 +	2000 +	1530 ±	normal
4977	„	1000 +++	normal	negativ	„
4978	1000 +	500 +++	1000 ++	1000 ++	„
5078[1])	500 +	500 +++	2000 +	1000 +	500 +
6375	negativ	100 ++	1000 +	100 ++	1000 +
6593	2000 +	normal	1000 +	normal	normal
6636	100 ++	100 ++	100 ++	100 ++	1000 +
6670	negativ	negativ	negativ	100 +	negativ
6756	„	500 ±	500 ±	1000 +	„
6969					
7724	2000 ++	2000 +	2000 +	500 +	„
Infl. W.L.	500 +	100 ++	negativ	100 ++	2000 ++
„ 14	100 +	negativ	normal	negativ	negativ
„ 77	100 ++	normal	„	100 +	1000 +
„ 6718	100 ++	negativ	negativ	negativ	500 ±

Die unterstrichenen Nummern sind kokkoide Stämme (Typ I).

1) Pleomorpher Koch-Weeks-Stamm.

Es wurden auch Versuche angestellt, ob durch 30 Min. langes Erhitzen des Serums auf 56° die Normalagglutination für manche Generationen beseitigt oder vermindert werden konnte. Es ergab sich, daß in ungefähr 30 Proz. bei 24 Versuchen mit 6 typischen Koch-Weeks-Bazillen, dem pleomorphen Koch-Weeks-Bazillenstamm 5078 und 2 Influenzastämmen die Normalagglutination aufgehoben oder beträchtlich verringert und nie wesentlich verstärkt, oder erst hervorgerufen wurde. Dagegen wurde der Titer der stets gleichzeitig mitgeprüften spezifischen Sera durch das Inaktivieren nicht verändert.

Die Ansicht von Lemm, die mit kokkoiden und stäbchenförmigen Influenzabazillen arbeitete, daß spezifisch agglutinierendes Serum durch Inaktivieren seinen Titer nicht verändert, konnte somit auch für Koch-Weeks-Bazillen ergänzt und für Influenzabazillen bestätigt werden, während die Behauptung, daß eine unspezifische Flockung mindestens stark herabgesetzt wird, nur für einen Teil der Versuche und, wie ich gleich hinzufügen möchte, nur für einen Teil der Stämme zu gelten scheint. So wurde bei dem pleomorphen Stamm 5078 in 3 Versuchen mit weit auseinanderliegenden Generationen die unspezifische Agglutination sogar in der Verdünnung 1:1000 glatt aufgehoben, während beim typischen Koch-Weeks-Bazillenstamm 4861 zweimal die unspezifische Agglutination 1:1500 nicht im mindesten durch das Inaktivieren herabgesetzt wurde.

Spezifische Kaninchensera für Koch-Weeks-Bazillen mit einem Titer bis 1:2000 wurden verhältnismäßig leicht gewonnen.

Die Tiere vertrugen die Einspritzung von Stämmen, die öfters fortgezüchtet waren, 1 Fall ausgenommen, ohne schwere krankhafte Erscheinungen, zeigten jedoch hie und da tagelang anhaltende verminderte Freßlust, so daß dann bei der folgenden Injektion, um Tierverluste zu vermeiden, stets mit einer geringeren Gabe immunisiert wurde.

Um bei den in Tabelle II angeführten Versuchen am schnellsten einwandfreie Ergebnisse zu bekommen, wurden bei den üblichen 4—5tägigen Ueberzüchtungen die Stämme auf Normalagglutination geprüft und so verhältnismäßig rasch die in Tab. II niedergelegten Befunde erhalten; sie wurden nur dann erhoben, wenn die in gleichen Verdünnungen angesetzten Kontrollen mit Normalserum, das stets von einem Tier stammte, keinerlei Ausfällungen aufwies. Es muß hier darauf hingewiesen werden, daß es nicht unwahrscheinlich ist, daß es sich bei mancher „Normalagglutination" um spezifische Erscheinungen handelt; doch sind mir Befunde Pfeifferscher Bazillen bei Kaninchen nicht bekannt; allerdings fand Kristensen in der Mundhöhle von 60 Meerschweinchen 5mal Pfeiffersche Influenzabazillen. Nach den Vorversuchen konnte Serum 1, 2, 4 und 5 aktiv verwendet werden, Serum 3 gab inaktiv bei der damaligen Prüfung bessere Ergebnisse. Die Sera 1, 2 und 3 sind mit mehreren schlanken Koch-Weeks-Stämmen, Serum 4 nur mit einem schlanken Koch-Weeks-Stamm, Serum W.L. nach Mitteilung von Herrn Dr. Levinthal nur mit dem Influenzastamm W.L. hergestellt.

Eine Unterscheidung von typischen Koch-Weeks-, kokkoiden Koch-Weeks- und sicheren Influenzastämmen war mit Hilfe der Agglutination ebensowenig zu erreichen als eine Identifizierung. Das Ergebnis aller Versuche ist ähnlich, wie es Bieling und Joseph, Bieling, Kristensen, Jordan u. Sharp, Levinthal u. Fernbach, Scott, Anderson u. Schulz, Lemm u. a. für Influenzabazillen allein erhielten, und weist auf den uneinheitlichen Rezeptorenapparat auch innerhalb der sog. Koch-Weeks-Art hin, die sich eben dadurch als zusammengehörig mit der Influenzagruppe erweist.

Tabelle II zeigt, daß sich mit den schlanken Koch-Weeks-Stämmen 4612, 4808, 4861 ein ziemlich polyvalentes Serum (Serum 1) herstellen ließ, das auch den Influenza-W.L.-Stamm deutlich beeinflußte. Wurde bei der Immunisierung 4861 durch die ebenfalls schlanken Stämme 4810 und 4939 ersetzt, so nahm die Agglutini-

nation für Influenzastämme ab (Serum 2). Ein Serum, das mit den schlanken Koch-Weeks-Stämmen 4612, 4864 und 4903 (Serum 3) gewonnen war, zeigte auffälligerweise nur für den kokkoiden Stamm 6375 Agglutination, aber bis zum Endtiter, dagegen nicht für die anderen kokkoiden Koch-Weeks- und Influenza-Stämme. Die schlanken Koch-Weeks-Stämme wurden dagegen besser wie vom 1. und 2. Serum agglutiniert. Die schlechteste Agglutination zeigte das Serum (Serum 4), das nur mit einem schlanken Koch-Weeks-Stamm hergestellt war. Nur die Hälfte der schlanken Koch-Weeks-Stämme wurden deutlich verklebt. Die kokkoiden Koch-Weeks-Stämme wurden in geringerem Grade oder ebensowenig wie die Influenzastämme ausgeflockt. Das Serum 5 verklebte sämtliche schlanken Koch-Weeks-Stämme nicht einmal in geringster Verdünnung und agglutinierte nur die kokkoiden Koch-Weeks-Stämme 6636, 6375, die dadurch ihre nahe serologische Verwandtschaft mit den Influenzastämmen 6718 und 77 bekundeten. Allerdings war die Agglutination bei 6718 schwach und auch mit 6636, 6375 und Influenza 77 nur bis zur Hälfte des Endtiters feststellbar. Stamm Influenza 14 und der kokkoide Koch-Weeks-Stamm 6670 (anscheinend streng monovalente Stämme) wurden überhaupt nicht verklebt, so daß deutlich der uneinheitliche serologische Charakter auch der kokkoiden Gruppe hervorging, ein Verhalten, das völlig der Spalte 4 entspricht.

Der Stamm 5078, der bei der Anstellung der Reaktion noch in jeder Ueberzüchtung ausgesprochenen Typ III war, verdient besondere Beachtung. Da er als einziger von allen agglutinierenden Sera deutlich beeinflußt wurde, scheint die von Lemm bei einem pleomorphen Influenzastamm gemachte Beobachtung, daß diese Form zwischen den beiden Serumarten (mit kokkoiden und schlanken Stämmen hergestellt) eine vermittelnde Rolle spielt, auch für die pleomorphen Koch-Weeks-Stämme zu gelten. Man müßte versuchen, mit derartigen Stämmen agglutinierende Sera herzustellen, was ebenso wie die Herstellung agglutinierender Sera mit kokkoiden Koch-Weeks-Stämmen in Angriff genommen ist.

Drei größere Versuchsreihen über Agglutininbindung mußten wegen Normalverklebung ausscheiden und konnten damals wegen Mangel an Nährmitteln und spezifischem Serum nicht wiederholt werden. In 3 Versuchen zeigte sich bei einwandfreien Kontrollen, daß der kokkoide Koch-Weeks-Stamm 6375 aus dem Influenzaserum die Agglutinine sowohl für sich als auch für den Influenza-W.L.-Stamm in gleicher Weise band, obwohl er nur bis zur Hälfte des Endtiters verklebt worden war. Der dem Stamm homologe W.L.-Stamm, der auch bis zum Endtiter verklebt wurde, band die Agglutinine schwächer als Stamm 6375 für sich und noch schwächer für 6375.

Krankensera. Aus der Tabelle IIIa ist ersichtlich, daß in fünf Versuchen der Koch-Weeks-Eigenstamm gut, teilweise sogar in auffallend hohen Verdünnungen, ausgeflockt wurde, aber daneben wurden sowohl kokkoide Koch-Weeks-Bazillen als auch Influenzabazillen agglutiniert, wo bei Kranken der schlanke Typ gefunden wurde (7724), ferner dort, wo der kokkoide Typ festzustellen war, nicht nur kokkoide Koch-Weeks-Bazillen und Influenzabazillen, sondern auch schlanke Koch-Weeks-Bazillen (7535) und selbst die extreme oder pleomorphe Koch-Weeks-Form (6636). Stämme eines Types werden agglutiniert, andere desselben nicht. Weitere Versuche waren wegen der Schwierigkeit, bei poliklinischen Kranken Blut zu erhalten, nicht möglich, und auch die Absättigungsversuche konnten nur dort ausgeführt werden, wo genügend Serum zur Verfügung stand (6636, 7724). Weitere Versuche sind im Gange.

Tabelle IIIb zeigt, daß in 6 Fällen durch das Serum Influenzakranker Influenzabazillen und auch kokkoide und schlanke Koch-Weeks-Bazillen verklebt werden können, während gleichzeitig selbst Stämme des gleichen Typs gar nicht beeinflußt zu werden brauchen. Ein Ergebnis, das dem der Tabelle IIIa gleicht.

Es erscheint wesentlich, einiges über die Kontrollsera anzufügen. Wie aus der Arbeit bisher hervorgeht, ist es mit unseren derzeitigen Untersuchungsmethoden un-

Tabelle III.

Agglutinationsversuche von Koch-Weeks- und Influenzabazillen mit:

III a. Serum Koch-Weeks-Kranker				III b. Influenzakranker			
Krankenserum No.	Stamm	Ergebnisse	Bemerkungen	No.	Stamm	Ergebnisse	Bemerkungen
6008	6008	800 ±		Sch	4855, 6670, Infl. W.L.		
	6008	neg.	einige Wochen nach Genesung		6718	neg.	
R	6008	neg.	Mutter v. 6008, Verdacht a. Trägerin, bakt. neg.	K	4855, 6670, Infl. 6718, W.L.	„	
6194	6194	norm.		G	4855	„	
6195	5078 [1]), Infl. 77	neg.	Mutter v. 6194, kam als Trägerin in Frage. Bakt. 1× neg. Klinisch stets gesund		6670, Infl. 6718, Infl. W.L.	norm.	
	4939	1500 +		7611	4810	100 +	
	4810	1000 ±			6636, Infl. W.L., 77	neg.	
E.R.	4810, 4939	norm.				norm.	
	Infl. 77	neg.		7610	4810	neg.	
6375	6375 [2]), 6636	800 +			Infl. 77	norm.	
	Infl. 77	neg.			6636	50 ++	
6636	6636	800++	Serum 6636, abges. mit W.L.: 6636 +++		Infl. W.L.	200++	
	5078	200 ±	Serum 6636 abges. mit 6636: W.L. neg.		„ 77	norm.	
	Infl. W.L.	100 +		7686	6670	400 ±	
	„ 77	neg.			4903	neg.	
7724	7724	100++	Serum 7724 abges. mit W.L.: 7724 neg.		4864, Infl. W.L., 77, 14	norm.	
	6670, Infl. 77, W.L.	200 +	W.L. neg., 6670 100++	7684	6670	400 ±	
	4810, 4861	neg.	Serum 7724 abges. mit 6670: W.L. 6670, 7724 neg.		4903	200 +	
7535	7535, Infl. W.L.	200++			Infl. W.L.	100 +	
	6636, 4864	400+			4864, Infl. 77, 14	norm.	
	4808, 4612, 4939	500+		7702	6670	400 +	
	5078, 6670, 6756, Infl. 77, 14, 6718	norm.			4903	200++	
					Infl. W.L.	200 ±	
					4864, Infl. 77, 14	norm.	
				7703	6756	100++	
					Infl. W.L.	400 +	
					4903, Infl. 14	norm.	
				7726	6756, Infl. W.L.	200 ±	
					4903, Infl. 14	norm.	
				7734	6756, Infl. W.L.	neg.	
					4903, Infl. 14	norm.	
				U	4810, 4861	neg.	
					6670, 7724, Infl. W.L.	200 +	
					Infl. 14, 77	400 +	
				Bl	6670, 5078, Infl. 14, W.L., 77	neg.	
					6375, 4864	norm.	
					4978	100 +	
					4939	200 +	
				Be	6670, 6375, 5087	neg.	
					4933, Infl. 14	norm.	
					4978, Infl. W.L.	200 +	
					4864	400 +	
				7733	6756	neg.	
					4903, Infl. 14, W.L.	norm.	

1) Typ III (pleomorpher Stamm).
2) Die unterstrichenen Nummern sind kokkoide K.W.-Stämme.

möglich, einen wesentlichen Unterschied zwischen Influenzabazillen und Koch-Weeks-Bazillen festzustellen. Somit kann als Kontrolle nur ein Serum von Menschen verwendet werden, die wenigstens in den letzten Jahren weder Koch-Weeks-Bindehautkatarrh noch Influenza gehabt haben. Aber selbst wenn ein derartiges Serum erhältlich ist, besteht noch immer der Einwand des Trägertums (siehe 6195). Wie wir gesehen haben, gelingt es in der Mehrzahl der Fälle nicht, unspezifische Verklebungen durch Inaktivieren zu beseitigen, auch die Höhe der unspezifischen Flockung kann zur Trennung der spezifischen von der unspezifischen Reaktion nicht benützt werden, da man unspezifische Agglutinationen findet, die dem Titer der anscheinend spezifischen gleichkommen. In vorliegenden Versuchen wurde deshalb ein Serum verwendet, das von einer Person stammte, die in den letzten 10 Jahren sicher nie Koch-Weeks-Bindehautkatarrh und in den letzten 4 Jahren keine klinisch ausgesprochene Influenza hatte. Dieses Serum und gleichzeitig das eines sicher Koch-Weeks- und eines Influenzakranken wurde mit einer größeren Zahl der verwendeten Stämme im Laufe einer Woche fortlaufend geprüft. In der Tat zeigte sich nun bei den Krankensera fast stets Agglutination mit denselben Stämmen; Titerschwankungen kamen vor. Das normale Serum verklebte aber z. B. bei einer Prüfung alle oder einen Teil der Stämme, bei einer anderen keinen einzigen Stamm und erschien dann als Kontrollserum brauchbar.

b) Präzipitation.

In den Versuchen von Bieling und Joseph ging sie insoweit der Agglutination parallel, als stärker agglutinierende Sera auch stärker präzipitierten, doch keineswegs ganz genau. Sie halten die Agglutination für feiner und schärfer, weil geringe Wertunterschiede mit der Präzipitation nicht zur Darstellung kommen. Meine Versuche ergaben:

Tabelle IV.

Präzipitation mit spez. K.W.- und Infl.-Serum.

	1		2		3		4		5	
	2 Sdt. 37°	24 Std. 37°	2 Std. 37°	24 Std. 37°	2 Std. 37°	24 Std. 37°	2 Std. 37°	24 Std. 37°	2 Std. 37°	24 Std. 37°
4612	neg.	20 ++	20 +	50 ±	neg.	neg.	neg.	neg.	neg.	neg.
4808	20 +	50 +	20 +	50 +	„	„	„	20 +	„	„
4864	20 +	50 ±	20 +	100 ±	„	„	„	50 ±	„	„
4903	20 +	50 +	20 +	50 +	„	20 +	20 ±	20 +	„	„
Infl. 6718	20 +	20 +	20 +	50 ±	„	neg.	neg.	20 +	„	„
Infl..W.L.	neg.	50 ++	20 +	50 ++	„	50 ++	neg.	20 +	„	100 ++

Als Antigen diente eine Abschwemmung von Kulturen auf Levinthal-Agar mit destill. Wasser, die 12 Std. geschüttelt, scharf zentrifugiert, abpipettiert und sofort benützt wurde. Zunächst ist auffällig, daß die von Bieling und Joseph bei Influenzabazillen gemachte Beobachtung tatsächlich nur für das Influenzaserum und den homologen Stamm zutrifft (Serum 5). Bei den anderen 4 Sera finden sich deutliche Ausfällungen, wo die Agglutination schwach oder negativ war und umgekehrt[1]).

Eindeutig geht aus der Tabelle hervor, daß Influenzabazillenextrakte von Sera, die mit typischen Koch-Weeks-Bazillen hergestellt waren, geflockt wurden, genau so wie Auszüge typischer Koch-Weeks-Bazillen. Ein stets reziprokes Verhältnis zwischen Koch-Weeks-Bazillen- und Influenzabazillenextrakten und Sera ist aber nicht festzustellen.

1) Vgl. Tabelle II.

Zusammenfassung.

1) Beim Koch-Weeks-Bazillus gibt es, genau so wie beim Influenzabazillus, 3 Typen. Die von Levinthal und Fernbach aufgestellten Typen I, II und III des Influenzabazillus entsprechen den von mir aufgestellten Typen I, II und III des Koch-Weeks-Bazillus. — 2) Es ist möglich, daß ein Typus nach längerer Ueberzüchtung in einen anderen Typus umschlägt und die Form dieses Typus beibehält. Es kommt auch vor, daß ein Typus nur eine zeitlang in den andern umschlägt. Dies ist bei Typus I häufiger als bei Typus II. Manchmal ist es nicht leicht, zu entscheiden, welcher Typus vorliegt. — 3) Es ist rein morphologisch nicht möglich, einen der 3 Typen als eigene Art aufzustellen. — 4) Influenza- und Koch-Weeks-Bazillen zeigen lebhafte Molekularbewegung, verhalten sich färberisch gleich und bilden gleichgestaltliche Degenerations- und Involutionsformen. — 5) Die Kolonieform der Koch-Weeks- kann ebenso wie die der Influenzabazillen, je nach dem Nährboden, ein verschiedenes Aussehen haben. Auf dem gleichen Nährboden sehen die Kolonien der Koch-Weeks- und Influenzabazillen jedoch immer gleich aus. Hie und da kommt es vor, daß ein Stamm bei erster Aussaat Kolonien von anderem Aussehen bildet, wie die auf dem gleichen Nährboden ausgestrichenen Koch-Weeks- und Influenzabazillenstämme, die länger fortgeführt sind. — 6) Normalagglutination kommt bei Influenza- und Koch-Weeks-Bazillen vor. Sie kann weitgehend vom Alter der Kultur abhängen. Es gibt Stämme, die fast stets Normalagglutination zeigen. — 7) Mit spezifischen Kaninchensera war eine Unterscheidung der einzelnen Typen des Koch-Weeks- und Influenzabazillus ebensowenig möglich als eine Identifizierung. — 8) Die Sera von Kranken, die an Koch-Weeks-Bindehautkatarrh litten, verklebten den Eigenstamm meist sehr gut. Daneben wurden aber auch andere Koch-Weeks- und Influenzabazillenstämme der verschiedenen Typen ausgeflockt. Von den Sera Influenzakranker wurden Koch-Weeks- und Influenzabazillen verklebt.

9) Präzipitationsversuche ergaben, daß Influenzabazillenextrakte von Sera, die mit Koch-Weeks-Bazillen hergestellt waren, häufig, jedoch nicht immer, geflockt wurden.

Somit konnten weder durch morphologische noch durch serologische Untersuchungen Koch-Weeks- von Influenzabazillen unterschieden werden.

Nachdruck verboten.

Untersuchungen über den Erreger der ägyptischen Augenentzündung (Koch-Weekssches Bakterium) und seine Beziehungen zum Pfeifferschen Influenzabazillus.

[Aus der Staatl. Bakteriologischen Untersuchungsanstalt Erlangen (Geh.-Rat Prof. Dr. L. Heim, Prof. Dr. W. Weichardt).]

II. Mitteilung.

Ansprüche an Nährböden.

Von Privatdozent Dr. med. **Maximilian Knorr**, Oberarzt der Anstalt.

In Weichardts Ergebnissen habe ich versucht, geschichtlich die Entwicklung der Züchtung des Koch-Weeks-Bazillus darzustellen. Der für Influenzabazillen unbedingt nötige geringe Agargehalt von 0,5—1,5 Proz. (Olsen) war bereits von Weeks und Morax für die Koch-Weeks-Bazillenzüchtung eingeführt worden. Weiterhin ergab sich, daß die Koch-Weeks-Bazillen genau so wie die Influenzabazillen hämoglobinophile, besser hämophile Keime sind.

Es ist nicht richtig, daß die Koch-Weeks-Bazillen als streng serophil von den hämophilen Influenzabazillen zu trennen sind. Wenn es Morax, Weeks und v. Nestlinger gelang, auf geringprozentigem Agar ohne Blut Wachstum zu erhalten, so erklärt sich dies durch die Mitübertragung von Blut beim Ausstreichen des Sekretes. Das ist der Grund, warum Morax nur bei heftigen Fällen oder bei Uebertragung größerer Sekretmengen Erfolg hatte; deshalb gelang es ihm auch nur, die Kultur in einer oder wenigen Generationen weiterzuführen. Der Annahme von Axenfeld, daß Zusammenhänge zwischen Züchtbarkeit und Virulenz bestehen, kann ich nicht beitreten. Bei heftig verlaufenden Erkrankungen erhält man Kulturen, weil dabei fast stets Blut mit auf die Nährböden übertragen wird. Allerdings kann auch aus milderen Fällen die Kultur gelingen, wenn der Nährboden bluthaltig war, und es genügen dabei nur Spuren von Blut. Mit dem Vorhandensein oder Fehlen von Blut im Nährboden lassen sich aber nicht alle Beobachtungen erklären, und auf Blutnährböden bekam man ganz widersprechende Ergebnisse. Einige Forscher erhielten überhaupt kein Wachstum, andere nur selten, wieder andere, wie Luerssen, konnten die Koch-Weeks-Bazillen durch 50 Generationen auf ihnen fortführen. Die Blutart schien dabei keine große Rolle zu spielen, gegensätzliche Befunde wurden selbst bei der gleichen Blutart erhoben.

Auch ich erhielt auf Agar, dem Blut vom Meerschweinchen, Kaninchen, Hammel, oder Blutglycerolat nach Cantani zugesetzt war, nicht immer Wachstum und, wenn es eintrat, doch kein besseres, als wenn Ascitesflüssigkeit zum Agar gesetzt war. Auf Ascitesagar erzielte ich wochenlang leidlich gute Entwicklung der Koch-

Weeks-Stämme in sog. Tautropfenform. Plötzlich, als eine andere Ascitesflüssigkeit genommen wurde, blieben die Aussaaten steril. Es ist dies dadurch zu erklären, daß die alte Ascitesflüssigkeit etwas Blut enthalten hatte, die neue nicht. Wurde defibriniertes, inaktiviertes Blut benutzt, dann wuchsen darauf die Koch-Weeks- und Influenzabazillen, und zwar immer besser, je stärker der Agar nach dem Blutzusatz erhitzt war, aber nur bis zu einer gewissen Grenze; bei längerer Erhitzungsdauer wurde das Wachstum wieder geringer. Auf Levinthal-Agar, auf dem Influenzabazillen gut gedeihen, wuchsen auch meine Koch-Weeks-Bazillen gleich gut.

Man hat gemeint, daß das Wachstum der Influenzabazillen und der positive Ausfall der Benzidinreaktion in einem gewissen Zusammenhang stünden. Um über die Leistungsfähigkeit der Benzidinprobe zum Nachweis der Blutperoxydasen in bakteriologischen Nährmitteln Aufschluß zu erhalten, habe ich mit Herrn Dr. Gehlen Untersuchungen angestellt (Arch. f. Hyg. 1924).

Es handelt sich aber noch um andere Umstände, die hier mit hereinspielen:

1. Die Wirkung von Serum.

Davis und v. Nestlinger wiesen auf eine hemmende Wirkung hin, die Blutserum oder Ascitesflüssigkeit auf das Wachstum von hämoglobinophilen Keimen ausüben. Ferner haben Thyötta und Avery die schon früher festgestellte Tatsache bestätigt, daß zum Wachstum der Influenzabazillen 2 Stoffe nötig sind, und nachgewiesen, daß diese Stoffe in den roten Blutkörperchen enthalten sind. Sie bezeichnen sie mit V (Vitamin) und X. Diese beiden Stoffe müssen im Levinthal-Agar in der richtigen Konzentration vorhanden sein, wenn die Influenzabazillen gut gedeihen sollen.

Um nun den Einfluß aktiven, inaktiven, gealterten usw. V-Hammelblutserums auf die wachstumsfördernden Stoffe kennen zu lernen, wurden verschiedene Serummengen zu je 30 ccm Levinthal-Agar bei 45° gegeben und das Gemisch auf seine Eignung als Nährboden geprüft.

	Serum:	Ergebnis nach 72stdg. Bebrütung 37°
a) frisch aktiv	1 ccm	++++ bis (+)
	2 „	++ „ (++++)
	3 „	+ „ (+++)
	4–6 „	– „ (+)
b) nach 8–14 Tage Bebrütung 37°		desgl.
c) frisch inaktiv 30'60° C		keine Hemmung
d) frisch aktiv durch Kieselgurweichfilter		schwankend

++++ = üppiges, +++ = sehr gutes, ++ = gutes, + = schwaches, ± sehr schwaches, oft nur mikroskopisch sichtbares, — = kein Wachstum. Die in Klammern gesetzten Ergebnisse zeigen den Ausfall der Minderzahl der geprüften Stämme.

Somit lassen sich die widersprechenden Züchtungsergebnisse auf erwärmtem oder erhitztem Blutagar folgendermaßen erklären: Wird die Agarblutmischung auf 45—50° erwärmt, so erhält man nur Entwicklung, wenn die beiden Körper V und X aus den roten Blutkörperchen in die Umgebung diffundiert waren, oder wenn das Blut wenig-

stens etwas hämolysiert war. Aber das Wachstum ist doch noch schwach oder bleibt ganz aus, weil einer der beiden Stoffe, nämlich der V-Körper, durch das noch aktive Serum zerstört wird.

Hat man auf 50—60° erwärmt, dann wird das Serum teilweise inaktiviert und seine zerstörende Wirkung teilweise beseitigt, und man bekommt besseres Wachstum.

Durch Erwärmung auf 60—70° wird das Serum noch mehr inaktiviert; gleichzeitig gehen der V- und X-Körper besser in Lösung, das Wachstum wird mäßig gut.

Erwärmung auf 70—100° führt fast vollständige Inaktivierung des Serums herbei und löst die Blutkörperchen auf. Nun wird das Wachstum gleichmäßig gut.

Setzt man Blut zu kochendem Agar, dann wird die hemmende Serumwirkung sofort ausgeschaltet. Durch eine bestimmte Zeit des Kochens kommen V- und X-Körper in optimale Konzentration und man erhält sehr gutes und sogar üppiges Wachstum der Influenza- und Koch-Weeks-Bazillen.

Trotz Einhaltung der richtigen Mengen und Zeitverhältnisse bei der Herstellung des Levinthal-Agars kann es sich doch ereignen, daß mit dem Nährboden nicht die besten Ergebnisse erzielt werden. Diese, schon von Pringsheim, Olsen u. a. mitgeteilten Erfahrungen hatte auch ich gemacht. Die Erklärung suchte ich in der Einwirkung des Serums auf den V-Körper. Die im Beginne dieser Untersuchungen dem hygienischen Institute übersandte Veröffentlichung von Terada verschaffte den richtigen Einblick in die Verhältnisse und ersparte mir manchen Umweg in der weiteren Verfolgung der Frage. Terada stellte auch fest, daß es ein fermentähnlich wirkender Bestandteil des Serums ist, der den zum Wachstum der Influenzabazillen nötigen Körper zerstört, wenn er das Blutkörperchen verlassen hat. (Terada spricht nur von einem Körper; er hatte weder die Angaben von Davis und Nestlinger, noch die neueren Arbeiten berücksichtigt.)

Auf diesen Punkt war meine Aufmerksamkeit schon vor dem Erscheinen der Teradaschen Arbeit gerichtet, weil ich beobachtet hatte, daß bei Verwendung von defibriniertem hämolysierten Hammelblut, das vor der Zugabe zum heißen Agar mehrere Stunden im geheizten Zimmer oder längere Zeit im Eisschrank gehalten worden war, die hämoglobinophilen Keime nicht mehr gut wuchsen.

Ich bereitete nun Levinthal-Agar, indem ich zu 200 ccm $1^1/_4$proz. Agar 10 ccm defibriniertes Hammelblut setzte, das das eine Mal mit 20 ccm steriler, 0,85proz. Kochsalzlösung, das andere Mal mit 20 ccm sterilem dest. Wasser vermischt worden war; das so verdünnte Blut wurde in beiden Fällen 3 Std. im Brutschrank gehalten.

Das mit physiologischer Kochsalzlösung vermischte Blut lieferte einen Nährboden, auf dem das Wachstum genau so üppig wie in den Kontrollen war, dagegen gingen die Aussaaten auf dem Nähragar, der mit einem durch dest. Wasser hämolysierten Blut bereitet war, nicht an.

Auf diese Weise wurden 5 Stämme von Influenzabazillen und 11 Koch-Weeks-Stämme geprüft, immer mit dem gleichen Ausfall.

Diese fermentative Wirkung aktiven frischen Serums auf den V-Körper, der die roten Blutkörperchen verlassen hat — denn nur dieser wird, wie später gezeigt werden soll, zerstört — scheint gewissen quantitativen Schwankungen unterworfen zu sein. Ich habe in zahlreichen Versuchen, die sich über 2 Jahre ausdehnen (allein 80 Versuche mit Hammelserum), meist eindeutige Ergebnisse erzielen können, nur in einigen Versuchen keine Hemmung des Wachstums gegenüber den Kontrollen gesehen. In einem Versuch stammte das Blut von einem stark anämischen Hammel, in einem anderen von einem Kranken, der an verschiedensten Tropenkrankheiten litt und dessen Blut Wassermann-positiv war. Ich war bei den derzeitigen Verhältnissen noch nicht in der Lage, genügend Untersuchungen über die Wirkung von aktivem frischen Serum kranker und gesunder Menschen und Tiere auf den V-Körper anzustellen. Versuche sprechen dafür, daß vielleicht auf diesem Wege der Infektionsmechanismus bei Influenza analysiert werden kann[1]).

Durch künstliche Infektion des aktiven frischen Serums Gesunder mit Luftkokken wurde seine zerstörende Wirkung gegenüber Kontrollen vermindert. Es ist also möglich, daß entweder der den V-Körper zerstörende Stoff des Serums durch „Infektion" des Serums ausgeschaltet wird, oder daß die eingeimpften Bakterien V-Stoffe haben (Davis, Kligler u. a.) und bilden, die vom aktiven frischen Serum nicht oder nicht so schnell angegriffen werden können und die V-Körper der roten Blutkörperchen ersetzen.

Ob 2 Arten von V-Körpern, nämlich serumfeste und serumunbeständige, vorkommen, oder ob die im folgenden vertretene Annahme von der Gleichheit beider V-Körper richtig ist, erfordert ebenfalls noch langwierige Untersuchungen. Für die Gleichheit der V-Körper spricht der Ausfall folgender Versuche.

Hämolysiertes Hammelblut wurde durch Zusatz frischen aktiven Serums und Bebrütung völlig unbrauchbar für Levinthal-Agar gemacht. Die wiederholten Aussaten von 4 bestimmten Influenza- und 4 Koch-Weeks-Stämmen blieben stets steril. Nachdem die Platten 2 Tage bei 37° bebrütet und 2 Tage bei Zimmertemperatur gestanden hatten, wurde eine als gute Amme bekannte Kokkenart an die geraden Grenzen der einzelnen Plattensektoren aufgetragen. Nach 24stünd. Bebrütung zeigten nun die Stämme Wachstum von + bis ++++, nur 1 Stamm ging nicht mehr an, was bei den geschilderten Verhältnissen nichts Auffälliges ist. Da X-Körper reichlich im Nährboden sein mußten, ist der Schluß zulässig, daß der durch das aktive Serum zerstörte Blut-V-Körper durch den V-Körper der Ammen ersetzt wird. Nun hat Davis bereits die „hemmende Wirkung" aktiven Serums auf Platten durch Ammen ausgeschaltet, vielleicht besser gesagt, verringert; denn es gelang mir nie, das Wachstum auf Levinthal-Agar, der bei 45° mit aktivem frischen Serum versetzt war, durch Ammen so zu steigern, daß es dem auf gewöhnlichem Levinthal-Agar gleichgekommen wäre.

---

1) Anmerkung bei der Korrektur. In der Zwischenzeit habe ich die Wirkung des Serums von 30 Personen [Kinder, Erwachsene, Gesunde und Kranke (Tbc, Sepsis, Syphilis usw.)] prüfen können und keinerlei den V-Körper zerstörende Wirkung gesehen. Auch einige Versuche mit Taubenblut hatten das gleiche Ergebnis. Kaninchen-, Ratten-, Meerschweinchenserum verhielt sich wie Hammelserum. Es wird hierüber demnächst berichtet werden.

Das führt vorläufig zu dem Schluß, daß der V-Körper der Ammen ebenfalls durch den fermentartigen Stoff des Serums beseitigt wird; in den Ammenversuchen auf Levinthal-Platten mit bei 45° zugesetztem aktiven Serum werden die Ammen-V-Körper aber nicht ganz zerstört, und das Ammenwachstum ermöglicht, weil durch die Vermehrung der Ammen immer wieder neue V-Körper gebildet werden. Trotz dieser Neubildung findet eine Zerstörung der Ammen-V-Körper statt, die von der Menge und Wirksamkeit des zugegebenen Serums abhängt. Schaltet man nach Zerstörung der Blut-V-Körper die Serumwirkung durch Erhitzen aus, dann genügen die von den Ammen gebildeten V-Körper, um den Kochblutagar wieder optimal zu machen, da die gebildeten V-Körper nicht wieder zerstört werden. Voraussetzung für all diese Versuche ist eine reichlich V-Körper spendende Amme.

2. Die Abhängigkeit des Wachstums der Influenzabazillen und Koch-Weeks-Bazillen von der Konzentration der V- und X-Körper.

Zunächst wurden Agarplatten, die mit verschiedenen Mengen gewaschener Hammelblutkörperchen versetzt waren, besät und festgestellt, daß die mit geringeren Zusätzen von hämolysierten (bis 1:30000) oder nicht hämolysierten Hammelblutkörperchen eher besseres Wachstum (+ — ±) gestatteten als die sog. dicken undurchsichtigen Blutplatten.

Wenn man auch einwenden kann, daß es nicht immer gelingt, das Serum durch Waschen ganz zu beseitigen, muß man doch annehmen, daß so geringe Mengen keinen wesentlich schädigenden Einfluß mehr ausüben können, denn man weiß, daß auch bei stark wirkenden Seren immer noch Mengenverhältnisse von etwa 1:30 vorhanden sein müssen.

Kochte man die verschiedenen Agarmischungen kurze Zeit, dann war besseres Wachstum besonders bei größerem Blutzusatz feststellbar. Es steht nun fest, daß der Levinthal-Agar in der ursprünglichen Ausführung optimal für das Wachstum der Influenza- und Koch-Weeks-Bazillen ist. — Levinthal verlangt Zusatz von 5 Proz. defibriniertem Hammelblut, das nicht von einem anämischen Tier stammen soll.

Nach den Beobachtungen mit gewöhnlichen Blutplatten schien es nun naheliegend, die Abhängigkeit des Wachstums von der Menge des zugesetzten defibrinierten Blutes bei Levinthal-Agar zu prüfen. Es ergab sich, daß Levinthal-Agar, der 2,5—20 Proz. defibriniertes Hammelblut enthielt, annähernd gleiches Wachstum ermöglicht. Das Kochen scheint demnach, wie Levinthal annimmt, eine für das Wachstum der hämoglobinophilen Keime optimale Konzentration der X- und V-Körper herbeizuführen, selbst dann, wenn verschieden große Blutmengen zugesetzt werden, wie aus folgenden Versuchen hervorgeht:

Versuch I. 0,5; 1,0; 2,0 ccm gewaschene Hammelblutkörperchen wurden zu je 30 ccm 45° warmen, fertigen, optimalen Levinthal-Agars gegeben mit dem Erfolg, daß das Wachstum gegenüber den Kontrollen (++++) bei 7 Koch-Weeks-Bazillen und 2 Influenzabazillenstämmen abnahm (+ bis —), wenn die Menge der zugesetzten Hammelblutkörperchen zunahm. Das Ergebnis änderte sich nicht, wenn der Levinthal-Agar heißer als 45° (bis 80° wurde geprüft) war, auch war es gleich, ob die Hammelblutkörperchen hämolysiert oder nicht hämolysiert zugegeben wurden.

Versuch II. 40 ccm Levinthal-Agar 45° + 3 ccm defibriniertes Hammelblut inaktiviert. 30 Min. 60°: 4 Influenza- und 4 Koch-Weeks-Bazillenstämme Wachstum ±.

40 ccm Levinthal-Agar + 3 ccm defibriniertes Hammelblut frisch, die gleichen Stämme Wachstum ±.

40 ccm Levinthal-Agar + 3 ccm defibriniertes Hammelblut frisch, dann aufgekocht, die gleichen Stämme Wachstum ++++.

Daraus ergibt sich folgendes:

1) Die Verteilung der V- und X-Körper im Levinthal-Agar und damit die Güte des Nährbodens wird beeinträchtigt, wenn man in verschiedenen Mengen Blutkörperchen zugibt, ohne daß man durch entsprechendes Kochen die besten Bedingungen für die Entwicklung der hämoglobinophilen Keime schafft.

2) Durch Kochen wird eine optimale Konzentration der V- und X-Körper herbeigeführt, selbst wenn der Zusatz defibrinierten Hammelblutes zwischen 2,5—20 Proz. schwankt.

Auch bei derartigen Versuchen kann das Wachstum der Koch-Weeks- und Influenzabazillen durch Ausstreichen geeigneter Ammen auf den geraden Begrenzungslinien der Plattensektoren gesteigert werden. Da in den Untersuchungen, die die zerstörende Wirkung des Serums auf den V-Körper zeigen sollten, die Ammen in erster Linie durch ihre V-Körper den zerstörten Blut-V-Körper ersetzten, muß hier eine andere Ammenwirkung einsetzen.

Graßberger und Meunier glauben, daß Hitze und Ammenwirkung analoge Prozesse sind, da auf dem Voges-Agar (einem erhitzten Blutagargemisch) durch Ammen keine weitere Begünstigung zu erzielen war. Genau so ist es beim Levinthal-Agar (Wolf), es sei denn, daß er nicht optimal ist, wie ich in den oben angeführten, absichtlich nicht optimal eingestellten Operationsnummern sowohl bei Influenza- wie bei Koch-Weeks-Bazillen feststellen konnte. Wir besitzen somit in der fehlenden oder vorhandenen Ammenwirkung einen Indikator für die Güte eines Nährbodens für hämophile Keime. Williams und Povitzky berichten nun, daß auf einem schokoladefarbenen Blutagar, einem im Prinzip dem Kochblutagar ähnlichen Nährboden, durch Ammen eher eine Hemmung als eine Förderung der Influenzabazillen zu beobachten war. Wie das zu erklären ist, konnte experimentell noch nicht erfaßt werden.

Immerhin ist man berechtigt, anzunehmen, daß eine 2. Funktion der Ammen in einem Einfluß auf den X-Körper zu suchen ist, zumal wie ich in Weichardts Ergebnissen dargelegt habe, bei der Ammenwirkung das Vorhandensein der X-Körper Voraussetzung ist. Untersuchungen über diese Frage werden in einem späteren Abschnitt mit Herrn Dr. Gehlen besprochen werden.

3. Die Aenderung der Konzentration der V- und X-Körper bei steigender Erhitzung; ihre Wirkungen auf das Wachstum hämophiler Keime.

Die Beobachtung, daß Levinthal-Agar für Koch-Weeks-Bazillen genau so optimal ist, wie für Influenzabazillen, verlangte weitere Versuche in der von M. Tinti angegebenen Richtung.

M. Tinti hat Blutagar verschieden lange erhitzt und darauf Schokoladeblutagarkulturen von Influenza-, Keuchhusten- und Hundebazillen ausgesät. Es ergab sich, daß Hundebazillen auf einem Blutagar nicht mehr wuchsen, der länger als 20 Min. bei 100° erhitzt war, Keuchhustenbazillen gingen jedoch auf dem 6mal, Influenzabazillen auf dem 4mal so lange erhitzten Blutagar noch an. Der Hundebazillus zeigte auf unerhitztem Blutagar optimales Wachstum, beim Keuchhusten- und Influenzabazillus dagegen trat das beste Wachstum erst nach Erhitzung auf.

	Versuch I					Versuch II			
Levinthalagar wurde gekocht	10 Min. [2])	20 Min. [2])	30 Min. [2])	40 Min. [2])	50 Min. [2])	60 Min. [1])	60 Min. [2])	80 Min. [1])	80 Min.
Infl. W.L.	+++	++	verun-reinigt	++	—	+++	++	+++	—
„ 14	++	—	—	—	—	+	—	+++	—
„ 77	+	—	—	—	—	++	—	++	—
„ 6718	++	++	+	+	—	++	++	+	—
„ 10042	+++	+++	++	++	—	++	+	++	—
K.W. 4903	+	+	—	—	—	++	—	+++	—
„ 4977	++	++	—	—	—	+++	+	+++	—
„ 5078	++	—	—	—	—	+++	—	+++	—
„ 7535	+++	++	—	—	—	+	+	+++	—
„ 7729	++	—	—	—	—	+++	+	+++	—

Aus diesen Versuchen geht hervor:

1) Die Technik der Beimpfung ist ausschlaggebend für das Ergebnis. Impft man von Blutnährböden ab, wie es Tinti getan, dann überträgt man bald mehr, bald weniger wachstumsfördernde Stoffe, die man durch das Erhitzen ausschalten wollte. Die Beimpfung mit dünnen Kochsalzaufschwemmungen von Blutagarkulturen beseitigt am besten diesen Versuchsfehler.

2) Innerhalb einer Art verhalten sich verschiedene Stämme bei derartigen Versuchen ungleich. Ein Stamm kann auch in 2 verschiedenen Versuchen nicht das gleiche Verhalten zeigen. Dies wird abhängen von der Operationsnummer des Nährmittels, der jeweils ausgesäten Generation und ihrem Alter. Eine Unterscheidung der geprüften Influenza- von den Koch-Weeks-Stämmen war auf diesem Wege nicht möglich.

Zusammenfassung.

1) Zum Wachstum der ebenfalls hämophilen Koch-Weeksschen Keime sind die gleichen 2 Stoffe nötig, wie für das Fortkommen des Pfeifferschen Influenzabazillus. Die beiden Stoffe sind in den roten Blutkörperchen enthalten; sie sind im Schrifttum seit Graßberger bekannt und wurden von Thyötta und Avery mit V und X bezeichnet. — 2) Es konnte unter Benützung von Blutnährböden, vor allem von Levinthal-Agar, gezeigt werden, daß der V-Körper durch aktives, frisches Hammelserum zerstört und damit das Wachstum der Pfeifferschen Influenza- und Koch-Weeksschen Bazillen in gleicher Weise beeinträchtigt bzw. verhindert wird. — 3) Die den V-Körper zerstörende Kraft des Hammelserums ist Schwankungen unterworfen und wird durch $^1/_2$stünd. Erwärmen auf 60° ausgeschaltet. Bei der keimfreien Filtration durch Kieselgurweichfilter nach Knorr ging teils mehr, teils weniger der zerstörenden

1) Direkt mit Levinthal-Schrägagarkultur beimpft.
2) Mit NaCl-Aufschwemmung einer Kultur von Levinthal-Schrägagar sofort beimpft.

Kraft des Serums verloren. 8—12tägiges Aufbewahren aktiven frischen Serums bei 37° vermindert seine zerstörende Wirkung für den V-Körper nicht. — 4) Durch Ammen kann der zerstörte V-Körper der roten Blutkörperchen wieder ersetzt werden. Der V-Körper der Ammen und der der roten Blutkörperchen muß einstweilen als gleich angesehen werden. — 5) Nicht bloß die hitzeunbeständige, den V-Körper zerstörende Eigenschaft des Serums, sondern auch ein Uebermaß der V- und X-Körper kann das Wachstum beeinträchtigen oder vermindern. Dieses Ueberangebot kann aber auch durch entsprechendes Kochen auf die günstigste Konzentration zurückgeführt werden. Bei 2,5—20 Proz. Zusatz defibrinierten Hammelblutes zu Agar genügt gleichlanges Kochen, um einen ziemlich gleich guten Nährboden zu erzielen. — 6) Auch das Mißverhältnis der V- und X-Körper kann durch Ammen teilweise behoben werden, so daß eine 2. Funktion der Ammen neben der Spendung der V-Körper angenommen werden muß. Die Erscheinung des Ammenwachstums ist ein Indikator für nicht optimale Nährböden. — 7) Eine Trennung der Influenza- von den Koch-Weeksschen Bazillen auf verschieden lange erhitztem Blutagar war nicht möglich. — 8) In sämtlichen Versuchen wurden mehrere Influenzabazillenstämme und verschiedene Typen des Koch-Weeksschen Bazillus gleichzeitig verwendet. Das Verhalten aller Stämme war stets gleich. Bei den fein eingestellten Versuchsanordnungen hat dieses Ergebnis besondere Bedeutung für die Artgleichheit der Koch-Weeks- und Influenzabazillen.

Benützt man die niedergelegten Versuchsergebnisse beim Studium der Literatur der hämoglobinophilen Keime, insbesondere des Koch-Weeksschen Bazillus, so wird mancher Widerspruch klar werden.

Diese Untersuchungen geben auch Anlaß, die wachstumsbegünstigenden Faktoren in Blutnährmitteln für nicht hämophile Keime auf den geschilderten Wegen zu analysieren.

Dem Hilfsausschuß der Rockefeller-Stiftung danke ich für Unterstützung zur Ausführung dieser Arbeit.

Nachdruck verboten.

Nach fünfundzwanzig Jahren. Chronologische Uebersicht der Entdeckung der menschlichen Malariaübertragung.

Von Prof. Dr. **B. Grassi**, Rom.

Die Hypothese der Uebertragung der menschlichen Malaria durch Stechmücken wurde durch Laveran, Manson, Bignami, Dionisi, Koch u. a. in den Jahren 1895—97 wieder aufgerollt. Wann und durch wen diese Hypothese Gewißheit geworden, mögen die folgenden präzisen Daten zeigen.

A. 18. 12. 1897. Ross entdeckt die pigmentierten Zellen (junge Amphionten oder Sporonten nach der heutigen Nomenklatur) in 2 Exemplaren von Stechmücken mit gefleckten Flügeln und mit fast reifen, kahnförmigen Eiern; sie hatten einen Menschen gestochen, dessen Blut Halbmonde enthielt. Von diesen Stechmücken hatte Ross die Larven nicht gefunden.

B. 26. 1. 1898. Ross entdeckt dieselben Körperchen in einer anderen Stechmücke mit gefleckten Flügeln, deren Larven er nicht angibt, gefunden zu haben. Auch diese Stechmücke hatte von einem Patienten mit Halbmonden Blut gesogen. Ferner fand er die gleichen Körperchen in einer grauen Stechmücke (mit ungefleckten Flügeln, wie man heute weiß, Culex fatigans, die der pipiens sehr nahe steht), die er fing, während sie an einem Tertianapatienten Blut sog. Er nimmt an, daß sie von Zeit zu Zeit während mehrerer Tage denselben Menschen gestochen hatte (man beachte, daß Ross die aus den Larven geschlüpften Stechmücken unter dem Moskitonetz frei fliegen ließ). Diese graue Stechmücke wurde 3 Tage später getötet, nachdem sie schon seit einer ganzen Woche geflogen haben sollte [d. h. nachdem sie seit 1 Woche aus der Puppe geschlüpft sein sollte[1])].

C. 21. 5. 1898. Ross entdeckt, daß das Proteosoma Grassii der Sperlinge, dessen Verwandtschaft mit den Malariaerregern des Menschen Grassi bewiesen hatte, von der obengenannten grauen Stechmücke übertragen werden muß. Ross hat in der Tat die Entwicklung der Amphionten oder Sporonten (die er Coccidien nennt) im Körper dieser Mücken verfolgt. Er schließt seinen Bericht mit der Behauptung, daß die ersten Stadien solcher Coccidien von ihm in Stechmücken gefunden worden seien (siehe A und B), welche Blut mit 2 Malariaparasiten[2]) gesogen hatten, d. h. also, wie auch aus dem Text des Reports hervorgeht, Entwicklungsstadien der Halbmonde in 3 geflecktflügeligen Stechmücken und Entwicklungsstadien des Tertianaerregers in einer grauen Stechmücke. Somit beschuldigt Ross als Ueberträger der menschlichen Malaria sowohl Stechmücken mit gefleckten Flügeln als auch solche ohne Flügelflecke, und diese Beschuldigung wird ohne jedwede Einschränkung gegen beide Arten erhoben.

D. 2. 10. 1898 (nach der Notiz, auf welche sich E bezieht). Ross entdeckt die Uebertragung des obengenannten Proteosoma durch Stiche der grauen Stechmücke und leitet diese Entdeckung davon ab, daß er den Uebergang der Sporozoiten in die Speicheldrüsen verfolgt hat, und aus von ihm angestellten Experimenten.

E. 29. 9. 1898. Grassi beschuldigt als verdächtig, die menschliche Malaria zu übertragen, 3 Arten von Sumpfstechmücken, unter ihnen Anopheles claviger (maculipennis) und erklärt Culex pipiens, welche keine Sumpfstechmücke ist, als nicht übertragend.

F. Ungefähr am 10. 10. 1898 teilt Grassi mit, daß sein Diener, der nur von jenen 3 Arten von Sumpfstechmücken in einer Malariagegend gestochen war, malariakrank (Tropica) geworden ist.

G. 6. 11. 1898. Grassi teilt mit, daß ein gesunder Mann, der

---

1) It was killed three days afterwards, when it must have been quite a week old (after hatching from pupa).

2) The early stages of similar coccidia have been found in mosquitos fed on blood containing two of the parasites of malaria.

nur von denselben 3 Arten von Sumpfstechmücken in malariafreier Gegend gestochen wurde, von Malaria (Tropica) infiziert wurde. (Versuch in Gemeinschaft mit Bignami.)

H. 6. 12. 1898. Grassi teilt mit, daß er eine doppelte Tertiana nur durch den Stich von Anopheles claviger in einem Menschen erhielt, der nicht malariakrank war und in einem malariafreien Ort wohnte. (Versuch in Gemeinschaft mit Bignami und Bastianelli.)

Zu gleicher Zeit teilen Grassi, Bignami und Bastianelli mit, daß sie die ersten Entwicklungsstadien der Halbmonde in diesen Anopheles, welche einen Halbmondträger gestochen, erhalten und daß sie ähnliche Stadien auch in 2 anderen Exemplaren derselben Art, die in einem Zimmer gefangen wurden, das von Malariakranken bewohnt war, gefunden hatten.

In Verfolg dieses 2. Befundes, zeitlich der 1., wie aus den Briefen von Charles an Ross hervorgeht, hatte sich Grassi vorgenommen, wenn möglich, festzustellen, mit welchen Stechmücken Ross experimentiert habe. So kam er zu der Beobachtung, daß die Eier von Anopheles denen der Rossschen Stechmücken mit gefleckten Flügeln ähnlich sind. Infolgedessen sprechen obige Forscher (Grassi, Bignami und Bastianelli) die Meinung aus, daß die Stechmücken mit gefleckten Flügeln, in welchen Ross die pigmentierten Körperchen entdeckt hatte, Anopheles gewesen seien, wobei sie es aber als nicht ausgeschlossen bezeichnen, daß die Stechmücken sich an irgendwelchen Tieren anstatt am Menschen infiziert haben könnten, da sie ja nicht aus Larven gezüchtet waren.

I. 22. 12. 1898. Grassi, Bignami und Bastianelli teilen mit, daß sie den ganzen Entwicklungskreislauf der Malariaparasiten in Anopheles claviger nachgewiesen haben, und daß derselbe demjenigen, den Ross für Proteosoma beschrieben hat, sehr ähnlich verläuft.

J. 5. 2. 1899. Grassi, Bignami und Bastianelli teilen mit, daß auch der Quartanaerreger durch Anopheles claviger übertragen wird und daß auch Anopheles superpictus die menschliche Malaria überträgt.

Nachdem Grassi festgestellt hatte, daß die graue Stechmücke (grey mosquito) von Ross dem Culex pipiens beinahe gleich ist, teilen Grassi, Bignami und Bastianelli mit, daß die graue Stechmücke, von welcher Ross positive Resultate für die Tertiana erhalten zu haben glaubte, in Wirklichkeit von dem Parasiten der Sperlinge infiziert sein mußte (dies hatte Grassi schon früher zu Charles gesagt, der in einem Schreiben vom 6. Jan. Ross davon Mitteilung gemacht hatte).

Ross hatte also ohne jedwede Einschränkung als Ueberträger der menschlichen Malaria 2 Stechmücken bezeichnet: 1) eine Stechmücke mit gefleckten Flügeln, die Grassi nach der Entdeckung der Uebertragung der Malaria durch Anopheles auf das Genus Anopheles bezog, und 2) eine Stechmücke mit ungefleckten Flügeln (Grey Mosquito = graue Stechmücke); von dieser letzteren urteilte Grassi, wegen ihrer großen Aehnlichkeit mit Culex pipiens, daß sie mit dem Proteosoma der Vögel infiziert gewesen sei, anstatt mit dem Tertianaparasiten, welche Annahme später Ross selbst zugeben mußte.

Im übrigen muß man beachten, daß alle Stechmücken gefleckte oder ungefleckte Flügel haben, um zu begreifen, daß die Angaben von Ross weder Grassi noch sonst jemandem zur Orientierung dienen konnten.

L. 7. 5. 1899. Grassi, Bignami und Bastianelli teilen mit, daß auch der Anopheles bifurcatus die Malaria überträgt. Sie bestätigen auch, was sie bereits am 22. 12. 1898 geahnt hatten, nämlich, daß die sog. braunen oder schwarzen Sporen von Ross degenerierte und tote Malariaparasiten darstellen. Sie bleiben dabei, daß die Malariaparasiten nicht auf die Nachkommenschaft der Anopheles übergehen und daß also der Entwicklungszyklus sich zwischen Mensch und Anopheles vollzieht (so wie es beispielsweise bei Taenia saginata für Mensch und Rind der Fall ist).

M. 22. 6. 1899. Grassi weist nach, daß auch A. pseudopictus die Malaria überträgt. „Es bleibt mithin bewiesen, daß alle italienischen Arten der Gattung Anopheles die Malaria übertragen (er spricht von der menschlichen Malaria), und man darf annehmen, daß alle Anopheles-Arten in jedem Lande der Welt Malariaüberträger sein müssen." Grassi erwähnt zu derselben Zeit ausgedehnte Experimente, aus welchen hervorgeht, daß die Stechmücken, die nicht zum Genus Anopheles gehören, die menschliche Malaria nicht übertragen; er bestätigt dadurch das, was schon teilweise von ihm gemeinsam mit Bignami und Bastianelli bewiesen war.

N. 17. 9. 1899. Grassi weist die Gegenwart der wurmförmigen Zygoten (Vermiculi) im Mageninnern der Anopheles nach und zeigt, daß der Stich eines einzigen Insektes für die Infektion eines Menschen genügt.

Dadurch wurde das Problem der menschlichen Malariaübertragung endgültig gelöst. Welches ist nun der Anteil, den Ross an dieser Lösung gehabt hat?

O. Datiert 31. 12. 1898. Bevor Ross Indien verließ, hat er uns selbst Aufklärung darüber gegeben, indem er eine Zusammenfassung seiner Arbeit [so seine eigenen Worte[1])] veröffentlichte. Diese Zusammenfassung erschien Anfang 1899. Um dieselbe gerecht beurteilen zu können, müssen wir uns vergegenwärtigen, daß Ross allwöchentlich durch Charles von allen Befunden Grassis, Bignamis und Bastianellis unterrichtet wurde, und daß er deshalb vor seiner Abreise von Indien mit 3 Arten von Anopheles experimentiert hatte, und zwar in 2 schönen Tertianafällen und in 3 Infektionen mit Halbmonden, von denen 2 zahlreiche Halbmonde aufwiesen, leider jedoch stets mit negativem Erfolg. Er beschränkt sich daher in dieser Zusammenfassung darauf, zu sagen, daß er 1897 die pigmentierten Körper in 2 Stechmücken gefunden habe, die einer neuen Art angehörten, ohne aber hinzuzufügen, daß sie Anopheles seien. Er gibt außerdem eine Zusammenfassung über seine Entdeckungen mit Proteosoma und fügt hinzu, daß in betreff der menschlichen Malaria noch viel zu tun übrig bleibt und daß man auf interessante Entdeckungen gefaßt sein müsse. Ferner meint er, daß „die schwarzen Sporen Dauerstadien seien, die außerhalb der lebenden Organismen existiere nkönnen"; er hält es mithin für wahrscheinlich,

1) Ross summarises his work.

daß sich der Malariaerreger, ohne daß er notwendigerweise durch das Blut des Menschen hindurchgehen müsse, fortpflanze. Er erwähnt, daß Grassi, der ganz unabhängig von ihm arbeitete, neuerdings beharrliche, epidemiologische Untersuchungen angestellt habe, die ihn zu der Annahme geführt hätten, daß eine besondere Stechmückenart, nämlich Anopheles claviger, der Malariaüberträger in Italien sei. Er sagt ferner, daß es Grassi, Bignami und Bastianelli gelungen sei, die pigmentierten Körperchen in Anopheles zu erzeugen, nachdem dieselben Blut von Menschen gesogen hatten, die von Halbmonden infiziert waren. Zum Schluß sagt er: „Ich betrachte es als wahrscheinlich, daß die Malaria nur durch den Stich der Mosquitos und vielleicht auch anderer Insekten übertragen wird[1])."

P. Bis zum 9. 9. 1899 hat Ross keine weiteren Untersuchungen veröffentlicht. Vom 9. 9. 1899 bis zum 14. 10. 1899 teilte er mit, daß er die Parasiten der menschlichen Malaria in 2 afrikanischen Anopheles-Arten gefunden habe.

Und nun urteile der Leser, ob man mit Recht sagen darf, daß die Rossschen Arbeiten in Indien den Beweis geliefert haben, daß die Anopheles den Vermittler bei der Uebertragung der menschlichen Malaria bilden, wie z. B. E. J. Wood (Transact. Americ. Soc. Tropic. Med. 1922. p. 363) geschrieben hat.

Man frage sich ferner, warum Ross mit jener Unternehmung keinen Erfolg hatte, zu welcher ihn Manson aufgefordert, nämlich: die Entdeckung der menschlichen Malariaüberträger für England zu erringen [to grab the discovery for England (30. 10. 1898)].

Offenbar beruht der Mißerfolg auf Ross' Versuchsmethode. Er stellte seine Experimente mit jedwedem beliebigen blutsaugenden Insekt an, indem er den malariakranken Menschen von ihm stechen ließ und dann in ihm (dem blutsaugenden Insekt) die Entwicklungsstadien des Parasiten suchte. Auf diese Art und Weise verließ er sich zu viel auf den Zufall, und da es mindestens 3 Malariaparasiten des Menschen gibt, von denen ein jeder von einem besonderen Mosquito übertragen werden könnte, und auch die richtigen Mosquitos (Anopheles) sich oft nicht beim Blutsaugen am Malariapatienten infizieren, und da endlich die Zahl der Stechmücken ungeheuer groß ist, glich Ross' Arbeit einigermaßen der des Sisyphus. Doch ist es ihm gelungen, mit den Sperlingen sein Ziel zu erreichen, weil glücklicherweise die Sperlinge fast immer die graue Stechmücke infizieren können, und dort, wo Ross seine Versuche anstellte, sie die häufigst vorkommende Stechmücke ist.

Grassi dagegen hatte schon seit mehreren Jahren bei der Uebertragung der Helminthen durch Zwischenwirte gezeigt, wie notwendig es ist, zunächst einmal die als verdächtig in Betracht kommenden Formen zu determinieren (Methode der Beschränkung auf verdächtige Formen), und dann erst die Versuche mit diesen Formen zu beginnen, ganz ähnlich wie es die Polizei zu tun pflegt, wenn sie, um den Urheber eines Verbrechens zu entdecken, zunächst die verdächtigen Individuen verhaftet. Auch in der Art und Weise, wie Grassi die Stechmücken auf die Probe stellte, ging er in abweichender Weise

1) Je considère comme probable que la malaria est communiquée à l'homme uniquement par les morsures des moustiques et peut-être d'autres insectes.

vor; vor allem versuchte er, Sicherheit zu gewinnen, ob sie mit ihren Stichen auch wirklich die Malaria erzeugten, und dann erst wurde von ihm der Parasit im Körper der Stechmücke aufgesucht, und dies, weil der Parasit im Körper der Stechmücke der mikroskopischen Untersuchung entgehen könnte, während praktisch die Entdeckung gleichwohl gemacht wäre, selbst wenn jene Entwicklungsstadien in den Anopheles unbekannt geblieben wären.

Für weitere Einzelheiten sei auf folgende Schriften verwiesen:

1) Grassi, B., Documenti riguardanti la storin della scoperta del modo di trasmissione della malaria umana. Milano 1903. (Ich stelle deren Kopien zur Verfügung.) — 2) Ders., The transmission of human malaria. (Nature. March 1. 1924.) — 3) Eckstein, Fritz, Zur Entdeckungsgeschichte der Malaria. Eine historisch-entomologische Studie. (Zool. Anz. Bd. 58. 1924.)

Nachdruck verboten.

Beitrag zu den „Coli-Typhus"-Erkrankungen der Haustiere.

[Aus dem Tierseucheninstitut der Universität Leipzig (Direktor: Prof. Dr. Eber).]

Von Dr. **A. Beck** und Dr. **W. Huck**, Assistenten am Institut.

Ueber die biologischen Eigenschaften der Paratyphaceen, insbesondere über ihr Verhalten zum Tierkörper, liegt eine umfassende Literatur vor. Sie ist bereits von den verschiedensten Autoren zusammengestellt worden, so daß wir uns, um Wiederholungen zu vermeiden und aus Gründen der Raumersparnis, auf die Wiedergabe der für die Arbeit wesentlichen Veröffentlichungen beschränken können. Aus den gleichen Gesichtspunkten heraus haben wir alle Arbeiten, die sich hauptsächlich auf das Gebiet der Fleischbeschau, insbesondere der Fleischvergiftungen, beziehen, nicht berücksichtigt.

Schermer und Ehrlich (1) haben über Paratyphuserkrankungen bei Haustieren berichtet. Sie beschrieben ein seuchenhaftes Verlammen bei Schafen und konnten aus den abortierten Feten einen Erreger züchten, den sie wegen seiner Eigenschaften als „Bacillus paratyphi abortus ovis" bezeichneten. In der gleichen Arbeit, in der außerdem der Paratyphus der Kälber und Schweine behandelt wurde, verdient die Beschreibung einer Erkrankung beim Rind besonderes Interesse. Außer Inappetenz, trübem Blick und angestrengter Atmung fielen die allgemeine Schwäche und Apathie auf. Aus den untersuchten Organen konnte ein Keim gezüchtet werden, der — trotzdem er dem Typhusbazillus nahe stand — doch eine Verwandtschaft zum Bacillus enteritidis Gärtner zeigte und deshalb als „typhoider Gärtner-Stamm" angesprochen wurde. Von Mießner und Kohlstock (2) ist eine croupöse Darmentzündung bei einem Rinde beschrieben worden, in dessen Organen Gärtner-Bazillen gefunden wurden. Echte Typhusbazillen konnte Jacobstal (3) im Milzabszeß eines Rindes nachweisen. Bugge und Diercks (4) haben über Durchfälle bei Rindern und Jungrindern berichtet, die durch Enteritisbakterien bedingt wurden. Ueber die Paratyphuserkrankung bei Schafen in Ueberruhr teilten Bruns und

Gasters (5) mit, daß von 300 Tieren 160 gestorben oder notgeschlachtet worden seien. Außer Mattigkeit und verminderter Freßlust nannten sie Abmagerung und stinkenden Durchfall als Krankheitssymptome. Combes (6, 7) hat bei typhösen Erkrankungen des Pferdes und Maulesels in 58 Fällen Paratyphusbazillen nachweisen können. In seiner „Durch Paratyphaceen bedingte Tierkrankheiten" benannten Arbeit hat sich Pfeiler (8) eingehend mit der Biologie der verschiedenen Erreger, ihrer Differenzierung und Resistenz, mit der Prophylaxis und Schutzimpfung beschäftigt. Pfeiler und Kohlstock (9) haben bei ihren Untersuchungen über Voldagsen-Pest bei Ferkeln selten Gelegenheit gehabt, Bazillen des Typus B zu ermitteln. Nach Karsten (10, 11) erkranken die Kälber unter hohem Fieber, Durchfall, Störung im Allgemeinbefinden bei relativ guter Futteraufnahme. Bei der Sektion fallen außer Milztumor kleinste, gelbe Nekroseherde in der Leber auf. Neben einer katarrhalischen Darmentzündung sind oft Lungenentzündungen vorhanden. In welchem Ausmaß Paratyphuserkrankungen bei Kälbern vorkommen, lehren die Angaben von Stickdorn (12), der in 170 Fällen von Kälberpneumonien 56mal Paratyphusbazillen nachweisen konnte. Schermer und Ehrlich (13) glauben Beziehungen zwischen Kälber- und Ferkelparatyphus nachgewiesen zu haben. Ledschbor (14) hat aus miliaren Organnekrosen bei geschlachteten Kälbern Paratyphusbazillen züchten können. Von Lütje (15) ist in neuerer Zeit eine ausführliche Abhandlung über die Typenfrage erschienen.

Unter den Singvögeln scheinen die Paratyphuserkrankungen relativ seltener zu sein. Joest (16) konnte aus einem Kanarienvogel eines Zuchtbestandes bewegliche, gramnegative Kurzstäbchen züchten, die er ihren biochemischen Eigenschaften zufolge der Enteritisgruppe zurechnete. Adam und Meder (17) haben mehrere Seuchengänge bei Kanarienvögeln geschildert, in deren Verlauf es ihnen gelang, Bazillen vom Typus B nachzuweisen. Weitere Mitteilungen liegen von Pfeiler (18), Otto (19) und Zsúpan (20) vor.

Ueber eine Paratyphuserkrankung bei Kücken hat Baudet (21) berichtet. Weißgerber und Müller (22) beschrieben eine seuchenhafte Erkrankung bei jungen Gänsen. Die Tiere waren mit dem Vorbericht eingesandt, daß sie schlechte Futteraufnahme, Durchfall, dicke Augen und Krämpfe zeigten. Bei der Sektion fand sich außer einer Milz- und Leberschwellung eine fibrinöse Herzbeutelentzündung. Ferner war eine Darmentzündung und eine pralle Füllung der Gallenblase vorhanden. Als Erreger wurden gramnegative, bewegliche Stäbchen ermittelt, die ihrem biochemischen und agglutinatorischen Verhalten nach eine Zwischenstellung zwischen Paratyphus B und Bazillus suipestifer einnahmen. Einen weiteren Fall einer Paratyphuserkrankung bei einer Junggans hat Pfeiler (23) veröffentlicht. Manninger (24) konnte aus 1—2 Wochen alten Enten, die unter Krampferscheinungen eingegangen waren, Paratyphusbazillen züchten. Pfaff (25) wies bei Truthühnern ähnliche Bazillen nach. Die Tiere waren nur 2 Tage krank, verweigerten das Futter, sperrten den Schnabel auf und zeigten eine starke Benommenheit. Außer einer Pericarditis fanden sich bei der Autopsie gelbe, bis erbsengroße Herde im Herzmuskel und in den Lungen. Die Milz war geschwollen. Die Leberkapsel war mit Fibrinauflagerungen bedeckt. Infektiöse Erkrankungen bei Truthühnern sind ferner von Mac Fadyean (26), Jowett (27) und Dood (28) mitgeteilt worden. Januschke (29) züchtete aus einem sporadisch eingegangenen Haushuhn ein Stäbchen, das er als Uebergangsform von den Paratyphus- zu den Pseudodysenteriebazillen ansprach. Nach Versuchen von Reinhold (30) sind Hühner für Infektionen mit Paratyphus- und Gärtner-Bazillen wenig empfänglich; dagegen gelang es ihm, von 10 Tauben 8 tödlich zu infizieren. Hinsichtlich der Empfänglichkeit standen Gänse und Enten zwischen Hühnern und Tauben. Pfeiler und Rehse (31) fanden bei einem Hahn, der mit Fleischabfällen und zerkleinerten Knochen gefüttert war, Paratyphusbazillen des Typus B. Ueber eine Paratyphose bei Tauben ist von Zingle (32) Mitteilung gemacht worden. Mazza (33) hat eine Hühnerepizootie beschrieben, bei welcher er gramnegative, bewegliche Stäbchen nachweisen konnte, durch die Milch nicht vergoren wurde.

Ueber den Hühnertyphus liegen von Pfeiler und seinen Mitarbeitern (34—39) zahlreiche, ausführliche Mitteilungen vor, die das Wesen der Krankheit, die Morphologie und Biologie des Erregers sowie dessen Stellung innerhalb der Coli-Typhusgruppe geklärt haben. Von Pfeiler (40) stammt auch der Identitätsnachweis des Hühnertyphuserregers mit dem von Klein (41, 42) beschrie-

benen Bazillus. Das gleiche gilt auch für die von Lignières und Zabula (43) isolierten Erreger der Salmonellose aviaire sowie für die von Lucet (44) und Moore (45) geschilderten Krankheiten. Van Straaten und Te Hennepe (46) haben auf Grund eines großen Untersuchungsmaterials die Uebereinstimmung des Kleinschen Bazillus mit dem Hühnertyphuserreger bestätigen können. Von Smith und Ten Broeck (47) wurde auf die nahe Verwandtschaft des Hühnertyphusbazillus mit dem menschlichen Typhuserreger hingewiesen. Durch Lerche (48) sind 2 Fälle von Hühnertyphus mit ausführlicher Angabe der biologischen und serologischen Eigenschaften der Erreger veröffentlicht worden. Mischinfektionen mit Geflügelcholera wurden von Pfeiler (49) und Postl (50) mitgeteilt. Weitere Beiträge zur Kasuistik liegen von Stephan und Geiger (51), Kraus (52) und Sachweh (53) vor.

Die folgenden Untersuchungsbefunde stammen aus dem im Tierseucheninstitut (früher: Veterinärinstitut) der Universität Leipzig in den letzten Jahren bearbeiteten Material, das uns von Herrn Prof. Dr. Eber in entgegenkommender Weise zur Verfügung gestellt wurde.

Fall I, Schwein 44.

Vorbericht: Das Schwein wurde eingesandt mit dem Bemerken, daß bereits etliche Wochen vorher mehrere Tiere gestorben bzw. notgeschlachtet worden seien. Nähere Angaben waren nicht beigefügt.

Anatomischer Befund: In der Haut befinden sich über den Körper verstreut zahlreiche linsen- bis zweimarkstückgroße Blutungen. Unter dem Endocard zahlreiche kleinste Blutpunkte. Die Körperlymphdrüsen sind geschwollen. In der Bauchhöhle ungefähr ein Wasserglas einer trüben, rotgelben Flüssigkeit. Das Bauchfell ist trüb, rauh und mit Fibrinauflagerungen bedeckt. Außer einer starken Gefäßinjektion fällt am Magen und Dünndarm nichts Besonderes auf. Die Schleimhaut des Blind- und Grimmdarmes dagegen ist geschwollen und mit zahlreichen kleineren und größeren Geschwüren bedeckt. Die Leber ist brüchig und lehmfarben, die Milz geringgradig geschwollen und blaurot gefärbt. Unter der Nierenkapsel bis stecknadelkopfgroße Blutpunkte.

Bakteriologischer Befund: Die Ausstrichpräparate aus Niere und Milz ergaben keinerlei Anhaltspunkte. Auf den aus Herzblut, Niere und Milz angelegten Platten wachsen sich gleichende Kolonien. Sie sind auf einfachem Agar nach 24stünd. Bebrüten hirsekorn- bis linsengroß und von grauweißer Farbe. Auf Conradi-Drigalski-Agar rufen sie keinen Farbenumschlag hervor. Sie sind durchsichtig und zart und hellen den Malachitgrünnährboden leicht auf. Das Wachstum kann als mäßig bezeichnet werden.

Bei den zur Prüfung entnommenen Keimen handelt es sich um lebhaft bewegliche Stäbchen von 1—2 μ Länge und 0,4 μ Breite, die sich nicht nach Gram färben. Die mit ihnen infizierte Maus stirbt nach 6 Tagen. Gelatine wird nicht verflüssigt. Den Farbenton des Endo-Agars verändern sie nicht. Auf der Gaßner-Platte wachsen sie als gelbliche, hirsekorngroße Einzelkolonien.

Die zur Nachprüfung der biochemischen Aktivität benutzte „Bunte Reihe" enthält Traubenzucker und Milchzucker in Bouillon und in der von Barsiekow angegebenen Zusammensetzung mit Lackmuslösung als Indikator. Arabinose und Saccharose fanden als Bouillon, Maltose und die Alkoholarten Mannit, Dulzit und Sorbit als Lackmusnutroselösung Anwendung. Ferner wurden benutzt Lackmusmolke-Kahlbaum, sterilisierte Milch und Neutralrotagar.

Traubenzucker und Arabinose werden stark vergoren, Milchzucker und Rohrzucker dagegen nicht angegriffen. In der Maltoselösung rufen sie Säurebildung und Gerinnung hervor. Die sechsatomigen Alkohole zeigen Säure- und Gasbildung. Die Milch gerinnt nicht; im Neutralrotagar ist Gasbildung und Reduktion vorhanden. Lackmusmolke zeigt nach 24 Std. eine rote Färbung, um dann in Blau umzuschlagen. Schwefelwasserstoffbildung ist vorhanden; die Indolprobe fällt negativ aus.

Serologische Prüfung.

Tabelle I.

Stamm Schwein 44.

Agglutinierendes Serum	Wertigkeit des Serums	Nach 24 Stunden										
		1:20	1:50	1:75	1:100	1:200	1:333	1:500	1:750	1:1000	1:2000	1:2500
Typhus (Inst.)	1:10 000	++	++	+	+	—	—	—	—	—	—	—
„ (Oelzschau)	1:10 000	+++	+++	++	+	—	—	—	—	—	—	—
Para A (RGA)[1])	1:3000	+++	+++	+++	+++	+++	++	++	+	—	—	—
Para B (Inst.)	1:2500	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	++	++	+	+
„ „ (RGA)	1:3000	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	++
Gärtner (Inst.)	1:5000	+++	+++	+++	+++	++	++	+	—	—	—	—
„ (RGA)	1:3000	+++	+++	+++	+++	+++	+++	++	—	—	—	—
Hühnertyphus (Inst.)	1:10 000	+++	+++	+++	+++	+++	++	++	±	—	—	—
Ferkeltyphus (RGA)	1:3000	— —	— —	— —	— —	— —	— —	— —	— —	— —	—	—
Suipestifer Kunzendorf (Inst.)	1:5000	+	±	—	—	—	—	—	—	—	—	—

Stamm Schwein 44 wurde, wie aus der Tabelle I ersichtlich, von dem Para B-Serum des Instituts und Reichsgesundheitsamtes bis zur Titergrenze agglutiniert. Er ist somit seinem kulturellen, biochemischen und serologischen Verhalten nach ein typischer Paratyphus B. Es ist anzunehmen, daß es sich im vorliegenden Falle um eine Sekundärinfektion mit Para B im Anschluß an eine Erkrankung an Viruspest gehandelt hat.

Fall II, Kaninchen.

Vorbericht: Das Kaninchen entstammt dem Versuchstierbestand des Instituts und wurde am 10. 8. 1921 mit $^1/_8$, am 11. mit $^1/_4$, am 13. 8. 1921 mit $^1/_2$, jeweils bei 56° C 1 Std. im Wasserbad abgetöteten Kultur eines echten Hühnertyphusstammes zwecks Gewinnung eines agglutinierenden Serums subkutan behandelt. Am 17. 8. 1921 ging es plötzlich ein.

Anatomischer Befund: Außer Abmagerung und hochgradiger Schwellung der Leber, Milz und Nieren sind keine pathologischen Veränderungen vorhanden.

Bakteriologischer Befund: Im Ausstrich vom Herzblut, Leber und Milz finden sich zahlreiche, 1—2 μ lange, gramnegative Stäbchen.

Die aus dem Herzblut gezüchteten Keime sind lebhaft beweglich und färben sich nicht nach Gram. Gelatine bleibt unverflüssigt. Auf Agar wachsen sie als stecknadelkopfgroße, bläulichweiße, zarte Kolonien. Auf Conradi-Drigalski- und Endo-Agar rufen sie keinen Farbenumschlag hervor. Malachitgrünagar wird von ihnen aufgehellt; auf der Gaßner-Platte wachsen sie als gelbe, durchscheinende Kolonien. Die subkutan geimpfte Maus stirbt 3 Tage nach der Infektion.

Bei der biochemischen Ueberprüfung zeigt der Stamm das der Paratyphus-Enteritisgruppe eigene Verhalten. Die Schwefelwasserstoffreaktion fällt positiv, die Indolprobe negativ aus.

1) RGA = Reichsgesundheitsamt.

Serologische Prüfung.

Tabelle II.

Stamm Kaninchen.

Agglutinierendes Serum	Wertigkeit des Serums	Nach 24 Stunden													
		1:20	1:50	1:75	1:100	1:200	1:333	1:500	1:750	1:1000	1:2000	1:2500	1:3333	1:5000	1:10000
phus (Inst.)	1:10000	++	++	+	+	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
„ (Oelz-chau)	1:10000	+++	+++	+++	++	±	—	—	—	—	—	—	—	—	—
ra A (RGA)	1:3000	++	++	++	++	++	+	+	—	—	—	—	—	—	—
ra B (Inst.)	1:2500	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	++	+	+	+	—	—	—
„ (RGA)	1:3000	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	++	+	—	—
rtner (RGA)	1:3000	++	++	+++	+++	+++	+++	++	—	—	—	—	—	—	—
„ (Inst.)	1:5000	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+	—	—	—	—	—	—	—
ihnertyphus (Inst.)	1:10000	+++	+++	+++	+++	+++	++	+	—	—	—	—	—	—	—
rkeltyphus (RGA)	1:3000	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
ipestifer (Inst.)	1:5000	++	++	++	++	+	+	+	—	—	—	—	—	—	—

Seinem kulturellen, biochemischen und serologischen Verhalten nach handelt es sich um einen echten Para B-Stamm.

Wie aus der Vorgeschichte des Falles hervorgeht, wurde das Kaninchen zwecks Herstellung eines agglutinierenden Hühnertyphusserums mit einem abgetöteten Hühnertyphusstamm vorbehandelt. Es könnte daher der Gedanke aufkommen, daß durch Verwechslung Paratyphusbazillen eingespritzt worden seien. Bei dieser Annahme müßte aber weiterhin Voraussetzung sein, daß der Stamm nicht oder nur unvollkommen abgetötet worden ist, zwei Möglichkeiten, die nach der geübten Versuchsanordnung mit Sicherheit ausgeschlossen werden können. Mithin bleibt als einzige Erklärung, daß das durch die Impfung mit abgetöteten Hühnertyphusbazillen geschwächte Kaninchen latent mit Paratyphus B infiziert war, nach der Impfung offen erkrankte und der Infektion erlag.

Fall III, Meerschweinchen 57.

Vorgeschichte: Das Meerschweinchen gehörte dem Zuchtbestande des Instituts an und ist plötzlich gestorben. Der gesamte Bestand war gesund; weitere Todesfälle traten nicht auf.

Anatomischer Befund: Darmentzündung und mäßige Milzschwellung; in der Milz vereinzelt kleinste, hirsekorngroße Knötchen.

Bakteriologischer Befund: Im Ausstrichpräparat von Herzblut und Milz werden wenige coliähnliche Stäbchen gefunden.

Auf Drigalski-Agar wachsen neben roten Coli-Kolonien, die sich in der Minderzahl befinden, zahlreiche stecknadelkopf- bis linsengroße, bläulich durchscheinende, zarte Kolonien von Herzblut, Milz und Leber.

Diese Keime sind ungefähr 1—2 μ lang, 0,5 μ breit und färben sich nicht nach Gram. Sie besitzen eine lebhafte Eigenbewegung. Gelatine wird nicht verflüssigt. Auf Endo-Agar wachsen sie als farblose, blasse, auf der Gaßner-Platte als gelbe Einzelkolonien. Malachitgrünagar wird aufgehellt. Für Mäuse ist der Stamm pathogen.

Der Stamm besitzt die der Paratyphus B-Gruppe eigene biochemische Aktivität. Indolbildung ist nicht vorhanden. Die Schwefelwasserstoffprüfung fällt positiv aus.

Serologische Prüfung.

Tabelle III.

Stamm Meerschweinchen 57.

Agglutinierendes Serum	Wertigkeit des Serums	Nach 24 Stunden												
		1:20	1:50	1:75	1:100	1:200	1:333	1:500	1:750	1:1000	1:2000	1:2500	1:3333	1:5000
Typhus (Inst.)	1:10 000	+++	+++	++	++	±	—	—	—	—	—	—	—	—
„ (Oelzschau)	1:10 000	+++	+++	++	+	±	—	—	—	—	—	—	—	—
Para A (RGA)	1:3000	+	+	+	+	±	—	—	—	—	—	—	—	—
Para B (Inst.)	1:2500	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	++	+	+	+	±	—
„ „ (RGA)	1:3000	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	++	++	+	—
Gärtner (Inst.)	1:5000	+++	++	++	++	+	+	±	—	—	—	—	—	—
„ (RGA)	1:3000	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
Hühnertyphus (Inst.)	1:10 000	++	++	++	++	+	±	—	—	—	—	—	—	—
Ferkeltyphus (RGA)	1:3000	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
Suipestifer Kunzendorf (Inst.)	1:5000	++	++	++	++	+	+	—	—	—	—	—	—	—

Das serologische Untersuchungsergebnis bestätigt vollauf den bakteriologischen Befund. Es handelt sich zweifelsfrei um einen Einzelfall einer Paratyphus B-Infektion, der erneut dartut, daß sporadische Erkrankungen vorkommen können und bei rechtzeitiger Erkennung und Vorbeuge eine Weiterverbreitung zu verhüten ist. Immerhin wird hierbei der Erfolg auch von anderen Faktoren, wie verhältnismäßig geringer Virulenz des Stammes, Fehlen von anderen begünstigenden Momenten, wie Diätfehlern, ungünstigen hygienischen Verhältnissen usw., abhängen.

Fall IV, Stieglitz 159.

Vorbericht: Das Tierchen ist einige Tage krank gewesen und hat kein Futter zu sich genommen. Außer dem Durchfall war dem Besitzer eine große Hinfälligkeit aufgefallen. Innerhalb 8 Wochen waren 5 Tiere gestorben.

Anatomischer Befund: Bis auf eine katarrhalische Darmentzündung liegen keine krankhaften Veränderungen an Organen vor.

Bakteriologischer Befund: Im Herzblutausstrich sind gramnegative coliforme Stäbchen vorhanden.

Auf der von Herzblut angelegten Agarplatte wachsen zahlreiche bläulichweiße, saftige Einzelkolonien; auf Drigalski-Agar befindet sich ein zusammenhängender blauer Rasen. Die mit Darminhalt beimpfte Drigalski-Platte weist stecknadelkopfgroße, blaue, durchsichtige Kolonien in Reinkultur auf.

Es handelt sich bei diesen Blaukeimen um 1—2—5 μ lange, gramnegative Stäbchen mit lebhafter Eigenbewegung, deren Kolonien auf Endo-Agar keinen Farbenumschlag bewirken. Die Gaßner- und Malachitgrünplatte nehmen bei reichlichem Wachstum einen gelblichen Farbenton an. Eine Verflüssigung der Gelatine findet nicht statt. Die subkutan infizierte Maus stirbt $1^1/_2$ Tage nach der Impfung. Schwefelwasserstoffbildung ist vorhanden; die Indolprobe fällt negativ aus.

Das biochemische Verhalten des Stammes kennzeichnet ihn als Angehörigen der Paratyphus B-Gruppe.

Serologische Prüfung.

Tabelle IV.

Stamm Stieglitz 159.

luti- ndes um	Wertigkeit des Serums	Nach 24 Stunden													
		1:20	1:50	1:75	1:100	1:200	1:333	1:500	1:750	1:1000	1:2000	1:2500	1:3333	1:5000	1:10000
(Inst.)	1:10000	+++	+++	+++	++	±	—	—	—	—	—	—	—	—	—
(Oelz-	1:10000	++	++	+	+	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
)	1:3000	+++	+++	+++	+++	+++	+++	++	+	±	—	—	—	—	—
)															
(Inst.)	1:2500	+++	+++	+++	+++	+++	+++	++	++	++	+	+	±	—	—
(RGA)	1:3000	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	++	++	+	—	—
(Inst.)	1:5000	+++	+++	+++	+++	+++	++	++	++	+	—	—	—	—	—
(RGA)	1:3000	++	+++	+++	+++	++	+	+	±	—	—	—	—	—	—
typhus	1:10000	+++	+++	+++	+++	+++	++	++	++	+	—	—	—	—	—
)															
yphus	1:3000	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
)															
ifer	1:5000	+++	+++	+++	+++	+++	++	+	—	—	—	—	—	—	—
endorf															
)															

Von den beiden zur Verfügung stehenden Paratyphussera wurde der Stamm bis zur Titergrenze agglutiniert. Verhältnismäßig hoch agglutinierte den Stamm Para A-Serum (25 Proz.), während die Gärtner-Sera ihn zu 20 bzw. 16 Proz., Hühnertyphus- und Suipestiferserum nur zu 10 Proz. agglutinatorisch beeinflußten. Es ist somit der aus dem Stieglitz 159 isolierte Keim als Paratyphus B anzusprechen.

Die bis jetzt beschriebenen Para B-Stämme weisen, trotzdem sie aus 4 verschiedenen Tierarten (Schwein, Kaninchen, Meerschweinchen, Stieglitz) gezüchtet sind, in ihrem kulturellen, biochemischen und besonders im serologischen Verhalten eine so weitgehende Aehnlichkeit und Uebereinstimmung auf, daß Zweifel über ihre Typenzugehörigkeit nicht entstehen können. Besonders in die Augen springend ist diese Uebereinstimmung bei dem Stamm Stieglitz 159 und Kaninchen, weiter bei Stamm Schwein 44, während Stamm Meerschweinchen 57 von allen Sera mit Ausnahme der Para B-Sera schwächer beeinflußt wird und somit als der serologisch bestdifferenzierte Para B-Stamm bezeichnet werden kann.

Fall V, Huhn 382.

Vorbericht: Das Huhn wurde von dem Besitzer eingeliefert mit dem Bemerken, daß eine Vergiftung wahrscheinlich sei.

Anatomischer Befund: Neben einer Darmentzündung fällt die hochgradige Schwellung der Leber auf. Diese ist gelbbraun gefärbt und mit zahlreichen nekrotischen Herden durchsetzt.

Bakteriologischer Befund: Im Ausstrichpräparat eines solchen Herdchens liegen vereinzelte schlanke Stäbchen.

Auf der mit Material aus der veränderten Leber beimpften Agarplatte wachsen nach 24stünd. Bebrüten mohnsamen- bis linsengroße, grauweiße, saftige Kolonien. Auf der Drigalski-Platte finden sich bläuliche, leicht getrübte Kolonien bis zu Hirsekorngröße.

Die von den blauen Kolonien entnommenen Keime sind 1—4 μ lange, unbewegliche Stäbchen, die zum Teil in Fadenverbänden liegen und sich nicht nach Gram färben. Auf Endo-Agar zeigen sie ein gleichmäßiges Wachstum in Einzelkolonien. Der Nährboden hat einen leicht rötlichen Farbenton. Der Malachitgrünagar erfährt eine gelbliche Aufhellung. Auf der Gaßner-Platte macht sich eine deutliche Blautönung bemerkbar. Gelatine wird nicht verflüssigt. Für Mäuse war der Stamm bedingt pathogen. Schwefelwasserstoffbildung ist vorhanden, die Indolprobe dagegen fällt negativ aus.

Bei der wiederholten Nachprüfung in der bunten Reihe fällt die starke Gasbildung in Trauben- und Milchzuckerbouillon auf. Rohrzucker und Arabinose zeigen in den ersten beiden Tagen keine Veränderung. Erst nach 72 Std. sammelt sich in der Kuppe der Gärröhrchen Gas an, das von da an schnell zunimmt. Säurebildung findet bei allen Zuckerarten und Alkoholen statt. Die Lackmusmolke besitzt vom ersten Tage an eine weinrote Farbe, die sich bis zum Abschluß der Prüfung nicht verändert. Die Milch gerinnt nicht. Die Gasbildung im Neutralrotagar setzt am ersten Tage ein; die Reduktion dagegen ist erst am 4. Tage sichtbar.

An dem Stamm 382 fällt besonders die Variabilität auf. Die beiden Alkohole Dulzit und Sorbit werden bei den verschiedenen Prüfungen zu ganz verschiedener Zeit angegriffen. So bleibt z. B. einmal Dulzit fast 48 Std. unverändert, um dann umzuschlagen, ein anderes Mal behalten Sorbit und Dulzit 24 Std. hindurch ihren blauen Farbenton bei. Auch bei der Milch ist eine Inkonstanz zu bemerken. Sie bleibt zum Teil ungeronnen, gerinnt des öfteren aber am 7. bzw. 10. Tage.

Serologische Prüfung.

Tabelle V.

Stamm Huhn 382 I.

Agglutinierendes Serum	Wertigkeit des Serums	Nach 24 Stunden													
		1:20	1:50	1:75	1:100	1:200	1:333	1:500	1:750	1:1000	1:2000	1:2500	1:3333	1:5000	1:10000
Typhus (Institut)	1:10000	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
„ (Oelzschau)	1:10000	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
Para A (RGA)	1:3000	++	++	++	+	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
Para B (Institut)	1:2500	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
„ „ (RGA)	1:3000	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
Gärtner (Institut)	1:5000	+	+	+	±	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
„ (RGA)	1:3000	+	+	+	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
Hühnertyphus (Inst.)	1:10000	±	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
Ferkeltyphus (RGA)	1:3000	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
Suipestifer Kunzendorf (Institut)	1:5000	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—

Agglutinatorisch wurde der Stamm von keinem der zur Verfügung stehenden Sera nennenswert beeinflußt. Da sich der Stamm 382 kulturell und biochemisch dem Coli nahe verwandt verhielt, hätte eine Prüfung mit einem polyvalenten Coli-Serum vielleicht eine genauere Klassifizierung ermöglicht. Leider stand ein entsprechendes Serum nicht zur Verfügung. Wenn der Fall in dieser Veröffentlichung trotzdem Aufnahme gefunden hat, so geschah es deshalb, weil er zeigt, daß die herdförmigen Nekrosen in der Leber nicht ohne weiteres für eine bestimmte Infektion, wie z. B. Paratyphus oder Hühnertyphus, charakteristisch sind. Diese Nekroseherdchen in der Leber können bei allen Infektionskrankheiten des Geflügels vorkommen. Sie dürfen daher in ihrer Bedeutung kaum anders zu bewerten sein als beispielsweise die Blutpunkte bei septischen Erkrankungen der Säugetiere, die über das Vorliegen einer bestimmten Infektionskrankheit in der Regel nichts aussagen.

Fall VI, Huhn 155.

Vorbericht: Die Tiere zeigen Lahmgehen und Abmagerung.

Anatomischer Befund: Milz und Leber sind mit zahlreichen grauweißen Herden durchsetzt und geschwollen. Die Schleimhaut des Darmes ist verdickt und entzündet; im Darminhalt befindet sich Blut.

Bakteriologischer Befund: Von Herzblut, Leber, Milz und Dünndarm wurden Drigalski-Platten angelegt, auf denen nach 24stünd. Bebrüten zahlreiche Coli-Kolonien gewachsen waren. Auf der mit Lebermaterial beschickten Platte befanden sich blaue, durchscheinende, zarte Kolonien von Stecknadelkopfgröße in mäßiger Anzahl.

Diese Blaukeime waren im hängenden Tropfen unbeweglich. Ihre Größe ist außerordentlich verschieden; nach Gram färben sie sich nicht. Gelatine wird nicht verflüssigt. Auf Endo-Agar bedingen sie keinen Farbenumschlag; die Malachitgrünplatte zeigt kein Wachstum. Auf dem Gaßner-Nährboden bilden sie trübe, undurchsichtige, grüne Kolonien, die ein dunkles Zentrum und eine helle Randzone erkennen lassen. Für Mäuse ist der Stamm pathogen. Indol- und Schwefelwasserstoffbildung ist vorhanden.

Bei der Prüfung in der bunten Reihe fallen besonders die Alkohole Dulzit und Sorbit auf, die bis zum Abschluß der Untersuchung unverändert bleiben. Gas- und Säurebildung ist in Traubenzucker- und Arabinosebouillon vorhanden. Milchzucker und Rohrzucker werden nicht angegriffen. Lackmusmolke ist zuerst hellrot gefärbt, dunkelt dann nach, um am 4. Tage einen blauroten Farbenton anzunehmen. Die absolute Bläuung tritt nach 7 Tagen ein. Die Milch gerinnt nicht. Maltose und Mannit zeigen Schwebefällung und schließlich Gerinnung. Im Neutralrotagar ist Gasbildung und Reduktion vorhanden.

Serologische Prüfung.

Tabelle VI.

Stamm Huhn 155.

Agglutinierendes Serum	Wertigkeit des Serums	Nach 24 Stunden												
		1:20	1:50	1:75	1:100	1:200	1:333	1:500	1:750	1:1000	1:2000	1:2500	1:3333	1:5000	1:10000
Typhus (Institut)	1:10000	±	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
„ (Oelzschau)	1:10000	±	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
Para A (RGA)	1:3000	++	±	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
Para B (Institut)	1:2500	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
„ „ (RGA)	1:3000	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
Gärtner (Institut)	1:5000	+	+	+	+	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
„ (RGA)	1:3000	+	+	+	±	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
Hühnertyphus (Inst.)	1:10000	±	±	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
Ferkeltyphus (RGA)	1:3000	++	+	+	+	+	—	—	—	—	—	—	—	—	—
Suipestifer Kunzendorf (Inst.)	1:5000	++	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—

Auch bei diesem Bakterienstamm konnten die verfügbaren Seren, die ihn alle sehr schwach oder überhaupt nicht agglutinierten, einen Aufschluß über die nähere Typenzugehörigkeit nicht bringen. Zweifellos steht der Stamm aber seinem biochemischen Verhalten nach dem Paratyphus sehr nahe und dürfte wohl am besten als atypischer Vertreter dieser Gruppe zu betrachten sein.

Fall VII, Huhn 45.

Vorbericht: Das Huhn stammt aus einem Bestande, in dem mehrere Tiere plötzlich erkrankt und im Laufe von 24 Std. gestorben sind.

Anatomischer Befund: Die Leber ist geschwollen, bronzefarben und mit zahlreichen kleinsten, gelben Herden durchsetzt. Lungen und Nieren besitzen eine außergewöhnlich graubraune Farbe.

Bakteriologischer Befund: Im Ausstrich des Herzblutes sind keine Bakterien vorhanden; dagegen finden sich plumpe, gramnegative Stäbchen in Leber und Milz in zahlreicher Menge.

Auf den Agarplatten von Milz und Leber wachsen tautropfen- bis hirsekorngroße, fast durchsichtige Kolonien in reichlicher Menge, die den Farbenton der Drigalski- und Endo-Platte nicht verändern. Auf Gaßner-Nährboden läßt sich nur geringes, auf Malachitgrünagar kein Wachstum erzielen. Die von verschiedenen Platten entnommenen Keime sind 1—2 μ lang, 0,5 μ breit, gramnegativ und unbeweglich. Gelatine verflüssigen sie nicht. Schwefelwasserstoff wird in mäßiger Menge gebildet, Indol dagegen nicht.

In ihrem biochemischen Verhalten gleichen die Keime dem von Pfeiler beschriebenen Erreger des Hühnertyphus. Gasbildungsvermögen fehlt überhaupt. Arabinose, Laktose und Saccharose werden nicht verändert. In Glykose, Maltose, Mannit und Dulzit tritt Säurebildung auf, die bei den 3 zuletzt genannten Nährböden eine Schwebefällung und dann Gerinnung in Gestalt eines Bodensatzes bedingt. Der Sorbit erfährt keinen Farbenumschlag. Lackmusmolke Kahlbaum nimmt in den ersten Tagen eine rote Farbe an, um später in Blau umzuschlagen und dabei vollkommen klar zu werden. Die Milch gerinnt nicht, färbt sich bei Brutschranktemperatur von 37° C gelblich und hat bei der nach 14 Tagen vorgenommenen Prüfung einen ausgesprochen alkalischen Charakter.

Serologische Prüfung.

Tabelle VII.

Stamm Huhn 45.

Agglutinierendes Serum	Wertigkeit des Serums	Nach 24 Stunden											
		1:20	1:50	1:75	1:100	1:200	1:333	1:500	1:750	1:1000	1:2000	1:2500	1:3333
Typhus (Inst.)	1:10000	+++	+++	+++	+++	+++	+++	++	++	+	+	±	±
„ (Oelzschau)	1:10000	+++	+++	+++	+++	+++	+++	++	++	+	+	±	−
Para A (RGA)	1:3000	+	++	++	+++	+++	+++	+++	+++	++	+	−	−
Para B (Inst.)	1:2500	+	+	+	++	+++	+++	+++	++	+	±	−	−
„ „ (RGA)	1:3000	+	+	+	++	+++	+++	+++	+++	+++	−	±	−
Gärtner (Inst.)	1:5000	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	++	+	−	−
„ (RGA)	1:3000	+++	+++	+++	+++	+++	+++	++	++	+	±	−	−
Hühnertyphus (Inst.)	1:10000	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	++	+	+
Ferkeltyphus (RGA)	1:3000	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−
Suipestifer Kunzendorf (Inst.)	1:5000	+++	++	+	−	−	−	−	−	−	−	−	−

Der Stamm 45 wird von Hühnertyphusserum, das von einem Kaninchen, welches mit abgetöteten Hühnertyphusbazillen des Stammes Pfeiler Jena-Original immunisiert worden war, bis zur Titergrenze agglutiniert. Er ist somit ein echter Hühnertyphus.

Fall VIII, Huhn 231.

Vorbericht: Das Huhn entstammt einem Bestande, in dem innerhalb 2 Wochen 15 Tiere gestorben sind.

Anatomischer Befund: Der Dünndarm ist geringgradig entzündet, Milz und Leber sind geschwollen.

Bakteriologischer Befund: In den aus verschiedenen Organen gefertigten Ausstrichen finden sich vereinzelt plumpe, gramnegative Stäbchen mit deutlicher polarer Färbung.

Die gleichen Keime werden im Kulturverfahren ermittelt. Sie sind 1—2 μ lang, ungefähr 0,8 μ breit und unbeweglich. Sie wachsen auf den verschiedenen

Nährböden als stecknadelkopf- bis linsengroße Kolonien mit dunklem Zentrum und lichter Randzone. Der Farbenton des Drigalski- und Endo-Agars erfährt durch sie keine Veränderung. Auf Malachitgrünagar läßt sich nur spärliches Wachstum erzielen; die Gaßner-Platte nimmt in der Umgebung der Kolonien einen gelbgrünen Farbenton an. Gelatine wird nicht verflüssigt. Die subkutan infizierte Maus stirbt nach 4 Tagen. Schwefelwasserstoffbildung ist vorhanden; die Indolprobe dagegen verläuft negativ.

Auf Grund ihrer biochemischen Aktivität sind die Keime als Hühnertyphusbazillen anzusprechen.

Serologische Prüfung.
Tabelle VIII.
Stamm Huhn 231.

Agglutinierendes Serum	Wertigkeit des Serums	Nach 24 Stunden													
		1:20	1:50	1:75	1:100	1:200	1:333	1:500	1:750	1:1000	1:2000	1:2500	1:3333	1:5000	1:10 000
phus (Inst.)	1:10 000	+++	+++	+++	+++	+++	+++	++	+	+	+	±	—	—	—
„ (Oelzschau)	1:10 000	+++	+++	+++	+++	+++	+++	++	++	+	+	±	+	—	—
ra A (RGA)	1:3000	++	++	++	+++	+++	+++	+++	+++	++	+	±	—	—	—
ra B (Inst.)	1:2500	+	+	++	+++	+++	+++	+++	++	+	—	—	—	—	—
„ „ (RGA)	1:3000	+	+	++	+++	+++	+++	+++	+++	++	+	±	—	—	—
ärtner (Inst.)	1:5000	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	++	++	+	+	—	—	—
„ (RGA)	1:3000	+++	+++	+++	+++	+++	++	++	++	+	±	±	—	—	—
ühnertyphus (Inst.)	1:10 000	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	++	++	++	+	+	+
erkeltyphus (RGA)	1:3000	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
uipestifer Kunzendorf (Inst.)	1:5000	+	+	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—

In seinem serologischen Verhalten stimmt Stamm 231 vollkommen mit Stamm 45 überein. Auch er wird von Hühnertyphusserum bis zur Titergrenze agglutiniert und ist somit ein echter Hühnertyphus. Auffallend ist die beiden Stämmen eigene starke Agglutinabilität durch Para B-, Gärtner- und Para A-Serum und die etwas schwächere durch Typhusserum, das Fehlen bzw. die geringe Agglutinierbarkeit durch Ferkeltyphus- und Suipestifer-Serum, auf die schon Pfeiler aufmerksam gemacht hat.

Fall IX, Pute 313.

Vorbericht: Die Truthenne ist tagszuvor noch munter gewesen und hat tüchtig gefressen. Am Tage darauf hat sie das Futter versagt, übermäßigen Durst, Durchfall und Erbrechen gezeigt.

Anatomischer Befund: Außer einer hämorrhagischen Darmentzündung besteht eine beiderseitige Pneumonie. Leber, Milz und Nieren befinden sich im Zustand der trüben Schwellung; in der Leber sind zahlreiche gelbe Nekroseherde, am Epicard Blutpunkte in großer Menge vorhanden.

Bakteriologischer Befund: Auf den mit Herzblut, Leber und Milz beimpften Drigalski-Platten wachsen stecknadelkopfgroße, bläulich durchscheinende, zarte Kolonien ohne Differenzierung von Zentrum und Randzone.

Die isolierten Keime sind 1—2 μ lange, bis 1 μ breite, gramnegative Stäbchen ohne Eigenbewegung; sie bilden auf dem Endo-Agar blasse, farblose Einzelkolonien; auf der Gaßner-Platte bieten sie sich als überwiegend grüne, nur vereinzelt gelbliche, glasige Kolonien dar. Der Malachitgrünagar bleibt ohne Wachstum. Gelatine verflüssigen die Keime nicht; für Mäuse ist der Stamm

pathogen. Die Schwefelwasserstoffprobe fällt schwach positiv aus; Indol wird nicht gebildet.

Für die biochemische Ueberprüfung wurde sowohl der Originalstamm als auch der aus dem Herzblut der Maus 376 gezüchtete Stamm 376 benutzt. Sie stimmen beide in ihrer Aktivität nicht vollkommen überein. Gemeinsam ist ihnen das Fehlen des Gasbildungsvermögens. Der Neutralrotagar bleibt unverändert. Säurebildung ist in der Glykose, Arabinose und Maltose vorhanden; Milchzucker und Rohrzucker werden nicht angegriffen. In der Mannitlösung findet Ausfällung und Gerinnung statt. Die Lackmusmolke ist nach 24stünd. Aufenthalt im Brutschrank rot gefärbt, schlägt aber bereits am 2. Tage um und zeigt gegen Ende des 3. Tages eine klare Blaufärbung. Die Milch wird nicht zum Gerinnen gebracht; sie behält ihre weißgelbe Farbe bei. Während Dulzit bei beiden Stämmen unverändert bleibt, tritt im Sorbitröhrchen, das mit Stamm 376 beimpft ist, schon nach 24 Std. eine Rötung und Ausfällung ein, die sich bis zum Abschluß der Prüfung nicht verändert. Zur Gerinnung kommt es nicht. Die mit dem Originalstamm 313 beimpfte Sorbitlösung zeigt keinerlei Veränderung.

Serologische Prüfung.

Tabelle IX.

Stamm Pute 313.

Agglutinierendes Serum	Wertigkeit des Serums	Nach 24 Stunden												
		1:20	1:50	1:75	1:100	1:200	1:333	1:500	1:750	1:1000	1:2000	1:2500	1:3333	1:5000	1:10000
Typhus (Institut)	1:10000	±	±	±	±	±	—	—	—	—	—	—	—	—	—
„ (Oelzschau)	1:10000	++	+	+	+	±	±	—	—	—	—	—	—	—	—
Para A (RGA)	1:3000	±	±	±	±	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
Para B (Institut)	1:2500	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
„ „ (RGA)	1:3000	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
Gärtner (Institut)	1:5000	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
„ (RGA)	1:3000	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
Hühnertyphus (Inst.)	1:10000	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
Ferkeltyphus (RGA)	1:3000	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
Suipestifer Kunzendorf (Inst.)	1:5000	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—

Wie die Tabelle zeigt, wurde der Stamm 313 von keinem der zur Verfügung stehenden Sera nennenswert beeinflußt. Außerdem neigte er in eigenartiger Weise bei Herstellung der Testflüssigkeit zur Sedimentierung, ohne daß von einer Spontanagglutination gesprochen werden könnte. Nach 24stünd. Stehen bei Zimmertemperatur oder im Brutschrank trat jeweils vollständige Klärung der Testflüssigkeit ein, indem sich die Bakterien als lockerer Schleier absetzten, ohne zu verklumpen. Diese Neigung, sich spontan abzusetzen, trat auch bei Zusatz der Serumverdünnung ein und war auch nicht durch vorheriges Erhitzen der Testflüssigkeit zu beseitigen. Der Mausstamm 376 unterschied sich in keiner Weise von dem Originalstamm 313.

Da das serologische Verhalten des Original- und Passagenstammes ein für die Klassifizierung des Stammes verwertbares Resultat nicht gab — über einen weiteren Versuch soll weiter unten im Zusammenhang mit dem Stamm 324 berichtet werden — so kann eine Einreihung nur auf Grund der biochemischen Eigenschaften erfolgen. Diese verweisen den Stamm in die Mitte zwischen Typhus und Hühnertyphus, und zwar weicht der Originalstamm 313 in seiner Reaktion gegen Arabinose und Sorbit vom Typhus, gegen Arabinose und Dulzit vom Hühnertyphus ab, während der Passage-

stamm 376 sich nur noch durch seine Säurebildung in Arabinose vom Typhus unterscheidet, vom Hühnertyphus hingegen durch sein Verhalten gegen Dulzit und Sorbit. Durch die Mauspassage ist somit eine Annäherung an den Typhus humanus erfolgt.

Fall X, Pute 324.

Vorbericht: Die Pute starb plötzlich, nachdem sie vorher Inappetenz und Bewegungsbeschwerden gezeigt hatte. Von 12 Tieren waren bereits 4 gestorben; 2 waren noch erkrankt.

Anatomischer Befund: Die Schleimhaut des Darmes ist in ihrem ganzen Verlauf hoch gerötet und verdickt; der Darminhalt ist mit Blut vermischt. Leber, Milz und Nieren sind geschwollen. Außer einer Lungenentzündung fallen zahlreiche Petechien am Epicard auf.

Bakteriologischer Befund: Im Milzausstrich sind zahlreiche Kurzstäbchen vorhanden.

Die mit Herzblut, Leber und Milz beimpften Agarplatten zeigen nach 24 Std. zahlreiche, bis hirsekorngroße grauweiße, trübe Kolonien. Auf Conradi-Drigalski-Agar wachsen sie als bläuliche, zarte Einzelkolonien, die nach mehrtägigem Aufbewahren bei Zimmertemperatur ein dunkles Zentrum und eine helle Randzone erkennen lassen. Die Farbe des Endo-Agars verändern sie nicht. Auf Gaßner-Nährboden zeigt sich nur geringes Wachstum von grüngelben Kolonien. Malachitgrünagar wird nicht aufgehellt.

Die zur Prüfung entnommenen Keime sind 1—1,5 μ lange, bis 0,5 μ breite, unbewegliche Stäbchen, die sich nicht nach Gram färben und Gelatine nicht verflüssigen. Die subkutan infizierte Maus stirbt nach 10 Tagen. Indol wird nicht gebildet. Die Schwefelwasserstoffprobe fällt schwach positiv aus.

Zur Prüfung in der bunten Reihe kommt der Originalstamm 324 neben dem aus dem Herzblut der Maus gezüchteten Stamm 398. Sie stimmen in den meisten Reaktionen überein. Gas wird von beiden nicht gebildet. Auch eine Reduktion des Neutralrotagars findet nicht statt. Säurebildung läßt sich in der Glykose, Arabinose und Maltose nachweisen. Milchzucker und Rohrzucker bleiben unverändert. Die Milch gerinnt nicht. Die Lackmusmolke ist am ersten Tage violett gefärbt und schlägt nach weiteren 24 Std. in ein klares Veilchenblau um. Mannit und Dulzit verhalten sich beiden Stämmen gegenüber gleichmäßig. Im Mannit tritt vom ersten Tage an Säurebildung auf, die zur Schwebefällung und Gerinnung führt. Dulzit wird nicht verändert. Im Sorbit ergeben sich Abweichungen. Das mit Stamm 324 (Original) beimpfte Röhrchen ist nach 24 Std. noch unverändert, zeigt am 2. Tage eine blaßveilchenblaue Farbe, die in ein Rotblau übergeht. Schließlich kommt es zur Bildung eines Bodensatzes, dessen überstehende Flüssigkeit klar und farblos ist.

Die mit dem Mausstamm 398 beimpfte Sorbitlösung erfährt keine Veränderung.

Serologische Prüfung.

Tabelle X A.

Stamm Pute 324.

Agglutinierendes Serum	Wertigkeit des Serums	Nach 24 Stunden													
		1:20	1:50	1:75	1:100	1:200	1:333	1:500	1:750	1:1000	1:2000	1:2500	1:3333	1:5000	1:10 000
Typhus (Institut)	1:10 000	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
„ (Oelzschau)	1:10 000	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
Para A (RGA)	1:3000	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
Para B (Institut)	1:2500	+	+	±	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
„ „ (RGA)	1:3000	+	+	±	±	±	±	—	—	—	—	—	—	—	—
Gärtner (Institut)	1:5000	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
„ (RGA)	1:3000	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
Hühnertyphus (Inst.)	1:10 000	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
Ferkeltyphus (RGA)	1:3000	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
Suipestifer Kunzendorf (Institut)	1:5000	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—

Tabelle X B.

	Traubenzucker-bouillon	Milchzucker-bouillon	Rohrzucker-bouillon	Arabinose-bouillon	Maltose	Milch	Lackmusmolke	Neutralrotagar	Barsiekow 1	Barsiekow 2	Mannit	Dulzit	Sorbit
Stamm 313	S.	o. V.	o. V.	S.	S.	nicht geronnen	blau	o. V.	S.	o. V.	S.	o. V.	o. V.
Stamm 376	S.	o. V.	o. V.	S.	S.	nicht geronnen	blau	o. V.	S.	o. V.	S.	o. V.	S.
Stamm 324	S.	o. V.	o. V.	S.	S.	nicht geronnen	blau	o. V.	S.	o. V.	S.	o. V.	S.
Stamm 398	S.	o. V.	o. V.	S.	S.	nicht geronnen	blau	o. V.	S.	o. V.	S.	o. V.	o. V.

S. = Säurebildung, o. V. = ohne Veränderung.

In seiner geringen Agglutinierbarkeit und Neigung zur Sedimentierung gleicht Stamm 324 und Passagestamm 398 vollkommen dem Stamm 313. Während der Stamm 313, wenn auch nur ganz schwach, vom Typhusserum agglutiniert wurde, so wird Stamm 324 vom Para B-Serum schwach beeinflußt. Da das wenig differenzierte serologische Verhalten für eine Klassifizierung des Stammes nicht ausreicht, müssen wir uns vorläufig darauf beschränken, die biochemischen Eigenschaften in den Vordergrund der Beurteilung zu stellen.

Biochemisch steht der Originalstamm 324 dem Typhus sehr nahe, von dem er nur in seinem Verhalten gegen Arabinose abweicht. Er gleicht somit vollkommen dem Passagestamm 376, während der Mauspassagestamm 398 in seinen Eigenschaften in Arabinose und Sorbit vom Typhus und in Arabinose und Dulzit vom Hühnertyphus abweicht, mithin die gleichen biochemischen Qualitäten wie der Originalstamm 313 besitzt. Während bei Stamm 313 durch die Mäusepassage eine Annäherung an Typhus humanus erreicht wurde, zeigt Stamm 324 gerade das umgekehrte Verhalten. Es handelt sich also um eine Variation, die zwischen Typhus und Hühnertyphus steht.

Um nun die Frage näher zu prüfen, ob es sich bei den Stämmen 313 und 324 um inagglutinable, variable Hühnertyphusstämme handelt oder aber um 2 nahe verwandte oder identische, selbständige, zwischen Typhus und Hühnertyphus stehende Typen handelt, wurden 2 Meerschweinchen — M. 148 mit Stamm 313, M. 149 mit Stamm 324 — immunisiert und die gewonnenen Sera mit den Stämmen 313, 324 und Hühnertyphusstamm 45 geprüft (vgl. Tabelle XI und XII). Wenn auch die auf diese Weise gewonnenen Sera infolge ihres relativ niederen Titers einen endgültigen Schluß nicht zulassen, so kann doch so viel aus den Versuchen entnommen werden, daß bei keinem der gewonnenen Sera eine Beeinflussung des Hühnertyphusstammes 45 festgestellt werden konnte, mit anderen Worten, daß es sich bei beiden Stämmen nicht um inagglutinable Hühnertyphusstämme handeln kann. Unsere Ansicht, daß es sich hierbei um Zwischentypen handelt, gewinnt dadurch an Wahrscheinlichkeit.

Tabelle XI.
Serum M. 148 immunisiert mit Stamm 313.

Serum-verdünnung	1:10	1:20	1:40	1:80	1:160	1:320	1:640	1:1280	1:2560
St. 313	+++	+++	+++	++	++	+	+	—	—
St. 324	+	+	—	—	—	—	—	—	—
Hühner-typhus 45	—	—	—	—	—	—	—	—	—

Tabelle XII.
Serum M. 149 immunisiert mit Stamm 324 I.

Serum-verdünnung	1:10	1:20	1:40	1:80	1:160	1:320	1:640	1:1280	1:2560
St. 324	+++	+++	+++	++	++	+	+	—	—
St. 313	+++	+++	++	+	+	+	—	—	—
Hühner-typhus St. 45	—	—	—	—	—	—	—	—	—

Was die weitere Frage der gegenseitigen Beziehungen der beiden Stämme anbetrifft, so konnte auch hier infolge des niederen Titers der Sera eine definitive Entscheidung nicht getroffen werden. Während das Serum M. 148 den Stamm 324 beinahe unbeeinflußt ließ, agglutinierte das Serum von M. 149 den Stamm 313 bis zur halben Titerhöhe. Dieses Versuchsergebnis, das wir ebenso wie das Verhältnis zu den übrigen Vertretern der Coli-Typhusgruppe einer erneuten Nachprüfung mit höherwertigen Seren zu unterziehen gedenken, spricht nicht für die Identität der beiden Stämme. Immerhin glauben wir auf Grund des ähnlichen anatomischen Befundes, des kulturellen und biochemischen Verhaltens der Stämme 313 und 324 eine ziemlich enge Verwandtschaft annehmen zu dürfen.

Die Veröffentlichung der Paratyphusfälle beim Kaninchen und Meerschweinchen 57 erschien uns um dessentwillen bedeutungsvoll, weil beide erneut dartun, daß zuweilen Spontanerkrankungen von kleineren Versuchstieren an Paratyphus auch in sonst seuchenfreien Beständen vorkommen oder durch schwächende Eingriffe im Anschluß an Impfungen ausgelöst werden können und daß der Tatsache, daß sie Bazillenträger sein können, bei Versuchsanstellung mit paratyphusverdächtigem Material stets Rechnung getragen werden sollte.

Vergleicht man die anatomischen Befunde an der Leber bei Huhn 382, Huhn 155, Huhn 45 sowie bei Pute 313 und 324, so fällt eine gewisse Uebereinstimmung darin auf, daß jeweils in den geschwollenen, mehr oder weniger bronzefarbenen Lebern, kleine, graugelbe, nekrotische Herdchen festzustellen waren, wie sie auch für Geflügelcholera beschrieben sind. Daß diese Nekroseherdchen nicht unbedingt als für eine bestimmte Infektionskrankheit spezifisch angesehen werden dürfen, wurde bereits bei Besprechung des Falles 382 erwähnt. Jedenfalls aber haben sie insofern diagnostischen Wert, als sie auf das Vorliegen einer infektiösen Erkrankung hinweisen, deren Aetiologie durch die weitere bakteriologische Untersuchung aufzuklären ist.

Was das Vorkommen des Hühnertyphus anbetrifft, so wurde er in dem Jahre 1921 bei insgesamt 624 Hühnersektionen zweimal festgestellt, und zwar in 2 Nachbargehöften eines Dorfes des Bezirks Leipzig. Es handelt sich somit, streng genommen, um denselben Seuchenausbruch, der später auf das Nachbargehöft übergriff. 1922 mit 444 und 1923 mit 341 Hühnersektionen konnte trotz weitgehender bakteriologischer Untersuchung aller einer infektiösen Erkrankung verdächtigen Fälle kein neuer Fall von Hühnertyphus ermittelt werden. Da die zur Untersuchung gelangten Geflügelstücke aus fast allen Teilen des Reiches, besonders aber aus Mitteldeutschland, stammten, so kann daraus gefolgert werden, daß der Hühnertyphus zwar sporadisch in Mitteldeutschland, wie ja auch die Veröffentlichung von Lerche bestätigt, vorkommt, daß ihm aber zurzeit, verglichen mit der Geflügelcholera, eine untergeordnete wirtschaftliche Bedeutung beizumessen ist.

Die Typenfrage der in dieser Arbeit beschriebenen Paratyphaceen, wie sie von Bitter inauguriert und von Lütje neuerdings aufgenommen wurde, näher zu studieren, müssen wir einer späteren Arbeit vorbehalten, bis durch entsprechende Untersuchungen die Grundlage für eine richtige Auswertung der diesbezüglichen Versuchsergebnisse geschaffen ist.

Der technischen Assistentin des Instituts, Fräulein Schnädelbach, die uns bei der Durchführung der Versuche weitgehend unterstützte, sind wir zu besonderem Danke verpflichtet.

Literatur.

1) Schermer u. Ehrlich, Weitere Beiträge über die Paratyphuserkrankungen der Haustiere. (B. tierärztl. Woch. 1921. S. 469.) — 2) Mießner u. Kohlstock, Croupöse Darmentzündung beim Rinde, verursacht durch den Bacillus enteritidis Gärtner. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 65. 1912. S. 38.) — 3) Jacobstal, Typhusbazillen beim Rind. [Inaug.-Diss.] Straßburg 1902. — 4) Bugge u. Diercks, Ueber akute Durchfälle bei Rindern infolge von Paratyphus B (Enteritis Gärtner). (Zeitschr. f. Fleischhyg. Bd. 32. 1922. S. 3, 30, 44.) — 5) Bruns u. Gasters, Paratyphusepidemie in einer Hammelherde; dadurch bedingte Massenerkrankungen an Fleischvergiftung in Ueberruhr (Landkreis Essen). (Ztschr. f. Hyg. Bd. 90. 1920. S. 263.) — 6) Combes, Le Bacille paratyphique equin. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Ref. Bd. 70. 1920. S. 171.) — 7) Ders., Etude bactériologique des affections typhoides sur des chevaux atteints à Lyon, Nantes et St. Nazaire. (Ebenda. Abt. I. Ref. 1920. Bd. 69. S. 502.) — 8) Pfeiler, Durch Paratyphaceen bedingte Tierkrankheiten. (Ztschr. f. Immunitätsf. Bd. 3. 1919. S. 289.) — 9) Pfeiler u. Kohlstock, Untersuchungen über Voldagsenpest (Ferkeltyphus). (Arch. f. wiss. Tierheilk. Bd. 40. 1914. S. 114.) — 10) Karsten, Der Paratyphus der Kälber. (Dtsch. tierärztl. Woch. 1919. S. 103.) — 11) Ders., Die Beziehungen der sog. miliaren Organnekrose des Kalbes zum Paratyphus der Kälber. (Ebenda. 1919. S. 402.) — 12) Stickdorn, Untersuchungen über die der Coli-Typhusgruppe angehörigen Erreger von Kälberkrankheiten. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 76. 1915. S. 245.) — 13) Schermer u. Ehrlich, Paratyphus der Schweine, entstanden durch Ansteckung von paratyphuskranken Kälbern. (Dtsch. tierärztl. Woch. 1920. S. 543.) — 14) Ledschbor, Der Paratyphusbazillus B bei geschlachteten Kälbern als Erreger miliarer Organnekrosen. (Ztschr. f. Infekt.-Krankh. d. Haust. Bd. 6. 1909. S. 380.) — 15) Lütje, Ein weiterer Beitrag zum Kapitel der Paratyphusinfektionen. (Dtsch. tierärztl. Woch. 1924. S. 142, 157.) — 16) Joest, Eine durch Bakterien der Enteritisgruppe verursachte Kanarienvogelseuche. (Ber. tierärztl. Hochsch. Dresd. 1906. S. 110.) — 17) Adam u. Meder, Ueber Paratyphus B-Infektionen bei Kanarienvögeln und Untersuchungen über das Vorkommen von Bakterien der Coli-Typhusgruppe im normalen Kanarienvogeldarm. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 62. 1912. S. 569.) — 18) Pfeiler, Ueber ein seuchen-

haftes, durch Bakterien aus der Paratyphusgruppe verursachtes Kanariensterben. (Berl. tierärztl. Woch. 1911. S. 953.) — 19) Otto, Beitrag zu seuchenhaften Paratyphuserkrankungen bei Kanarienvögeln. [Inaug.-Diss.] Berlin 1922. — 20) Zsúpan, Gastroentérite infectieuse des canaris (Typhus des canaris). [Inaug.-Diss.] (Közlemények az osszehasonlitó élet- és kortan köréből. Bd. 8. 1909. p. 149.) — 21) Baudet, Paratyphus bei Kücken. (Ref. Wien. tierärztl. Mschr. Bd. 10. 1923. S. 420.) — 22) Weißgerber u. Müller, Untersuchungen über eine seuchenhafte Erkrankung der jungen Gänse in der Provinz Ostpreußen mit Paratyphusbefund. (Dtsch. tierärztl. Woch. 1922. S. 663.) — 23) Pfeiler, Ueber Paratyphus B-Bazillenbefund bei einer Junggans nebst allgemeinen Bemerkungen über das Vorkommen von Paratyphaceen beim Geflügel und bei Vögeln. (Ztschr f. Fleischhyg. Bd. 29. 1919. S. 115, 130.) — 24) Manninger, Paratyphus des Wassergeflügels. (Allatorvosi Lapok. 1918. Nr. 25.) — 25) Pfaff, Eine Truthühnerseuche mit Paratyphusbefund. (Ztschr. f. Infektionskrankh. d. Haust. Bd. 22. 1921. S. 285.) — 26) Mc Fadyean, Epizootic pneumo-enteritis of the turkey. (Journ. of Comp. Path. Vol. 6. 1893.) — 27) Jowett, Epizootic pneumopericarditis of the turkey. (Ibid. Vol. 11. 1898.) — 28) Dodd, Epizootic pneumoenteritis of the turkey. (Ibid. Vol. 18. 1905.) — 29) Januschke, Atypischer Paratyphus beim Huhn. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 88. 1922. S. 518.) — 30) Reinhold, Infektionsversuche mit den „Fleischvergiftern" (Bacillus enteritidis Gärtner und Bacillus paratyphosus B) beim Geflügel. (Ebenda. Abt. I. Orig. Bd. 68. 1913. S. 312.) — 31) Pfeiler u. Rehse, Ueber das Vorkommen von Bakterien aus der Gruppe der Fleischvergifter bei Vögeln. Paratyphus B-Infektion beim Huhn. (Ebenda. Abt. I. Orig. Bd. 68. 1913. S. 174.) — 32) Zingle, Untersuchungen über eine Taubenseuche mit Paratyphus B-Bazillenbefund. (Ztschr f. Infekt.-Krankh. d. Haust. Bd. 15. 1914. S. 268.) — 33) Mazza, Bakteriologische Untersuchungen über eine neuerdings aufgetretene Hühnerepizootie. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 26. 1899. S. 181.) — 34) Pfeiler u. Rehse, Bacillus typhi gallinarum alcalifaciens und die durch ihn verursachte Hühnerseuche. (Mitt. Inst. f. Landw. Bromberg. Bd. 5. 1913. S. 306.) — 35) Pfeiler u. Roepke, 2. Mitteilung über das Auftreten des Hühnertyphus und die Eigenschaften seines Erregers. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 79. 1917. S. 125.) — 36) Pfeiler u. Standfuß, Kasuistische, bakteriologische, pathologisch-anatomische sowie experimentelle Untersuchungen über Hühnertyphus. (Arch. f. wiss. Tierheilk. Bd. 45. 1919. S. 163.) — 37) Pfeiler, Einige Bemerkungen zur Hühnertyphusfrage. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 83. 1919. S. 369.) — 38) Ders., Beitrag zur Kasuistik des Hühnertyphus. (Ztschr. f. Fleischhyg. Bd. 30. 1920. S. 267.) — 39) Ders., Weitere Beiträge zur Kasuistik des Hühnertyphus. Immunisierungsversuche gegen die Krankheit. Hühnertyphus, Tuberkulose und Geflügelcholera in einem Bestande. (M. tierärztl. Woch. 1920. S. 417.) — 40) Ders., Identitätsnachweis für den Erreger der Kleinschen Hühnerseuche und den Pfeiler-Rehseschen Hühnertyphusbazillus. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 85. 1921. S. 193.) — 41) Klein, Ueber eine epidemische Krankheit der Hühner, verursacht durch einen Bazillus — Bacillus gallinarum —. (Ebenda. Bd. 5. 1889. S. 689.) — 42) Ders., Ein weiterer Beitrag zur Kenntnis der infektiösen Hühnerenteritis. (Ebenda. Bd. 6. 1889. S. 257.) — 43) Lignières u. Zabula, Ueber eine neue Hühnerkrankheit. (Bull. Soc. de Méd. vét. 1905. p. 453.) — 44) Lucet, Sur une nouvelle entérite diarrhéique enzootique des poules. (Rec. de Méd. vét. 1895. p. 156.) — 45) Moore, Infectious leucaemia in fowls — a bacterial disease frequently mistaken for fowl-cholera. (Rep. Bur. Anim. Industry. 1895/96.) — 46) Van Straaten u. Te Hennepe, De Kleinsche Kippenziekte. (Mededeel. v. de Rijksseruminr. 1917.) — 47) Smith u. Ten Broeck, Agglutination affinities of a pathogenic bacillus from fowls (fowl-typhoid) (Bacterium sanguinarum, Moore) witch the typhoid bacillus of man. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Ref. Bd. 64. 1916. S. 254.) — 48) Lerche, Zwei Fälle von atypischem Paratyphus bei Hühnern (Pfeilers Hühnertyphus) in der Provinz Sachsen. (Dtsch. tierärztl. Woch. 1921. S. 259.) — 49) Pfeiler, Ein Fall von Hühnertyphus, zugleich Mischinfektion mit Geflügelcholera. (Berl. tierärztl. Woch. 1920. S. 271.) — 50) Postl, Mischinfektion von Geflügelcholera und Hühnertyphus. (Ebenda. 1922. S. 222.) — 51) Stephan u. Geiger, Beitrag zur geographischen Verbreitung des Hühnertyphus (Pfeiler) in Deutschland. (T. R. 1922. S. 53.) — 52) Kraus, Zur Kenntnis des Hühnertyphus. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 82. 1919. S. 282.) — 53) Sachweh, Jahresber. d. Bakt. Inst. d. Landwirtschaftskammer f. d. Prov. Westfalen. 1919.

Nachdruck verboten.

Eine Hühnertyphusepizootie.

[Aus dem Hygien. Institut der Universit. Köln (Prof. Dr. Reiner Müller).]

Von Privatdozent Dr. **Karl L. Pesch** und Med.-Prakt. **Hans Schütt.**

Im allgemeinen gilt das Bacterium avicidum (Kitt) als der Erreger der Hühnercholera. Daß jedoch außer diesem auch Bakterien der Paratyphusgruppe Durchfallseuchen des Geflügels verursachen können, ist wohlbekannt[1]). Daß aber auch dem Eberth-Gaffkyschen Typhusbakterium sehr nahestehende Mikroorganismen hühnercholeraartige Epizootien veranlassen können, dürfte weniger bekannt sein.

Im allgemeinen werden die Typhusbakterien des Menschen als nicht fütterungspathogen für Tiere bezeichnet, und es ist bis jetzt nicht gelungen, Tiere mit aus echten Typhusfällen isolierten Typhusbakterien durch Fütterung zu infizieren. Es dürfte also zum mindesten von theoretischem Interesse sein, Bakterien kennen zu lernen, die auch bei Fütterung für Tiere hochvirulent sind und dabei agglutinatorisch mit den echten Typhusbakterien ganz übereinstimmen und sich nur in wenigen anderen Merkmalen unterscheiden. Darüber hinaus erhebt sich die epidemiologisch wichtige Frage, ob diese tierpathogenen Verwandten des Typhusbakteriums auch für den Menschen gefährlich sind; denn dann läge es nahe, für die Entstehung sonst epidemiologisch ungeklärter Fälle von Unterleibstyphus, besonders auf dem Lande in der Umgebung von Hühnerbeständen, diese Hühnertyphusbakterien verantwortlich zu machen.

Verlauf der Seuche.

Von einem Hühnerbestand (33 Hühner, 1 Hahn) in einem Vororte Kölns erkrankten im Verlaufe weniger Tage sämtliche Tiere mehr oder weniger stark. Die wichtigsten Krankheitszeichen waren: Abnahme der Freßlust, starker Durst, Durchfälle. Die erkrankten Tiere waren auffallend still und hielten sich abseits von den noch nicht erkrankten. Die Krankheit dauerte bei den eingegangenen Tieren 2—3 Tage. Nach dem Eingehen von 12 Tieren wurde den überlebenden vom Tierarzt Paratyphus B-Serum eingespritzt. In den nächsten Tagen starben noch 4 Hühner, die übrigen 18 überstanden die Krankheit.

Eigene Untersuchungen.

Von den verendeten 16 Hühnern wurden 5 dem Hygienischen Institut der Universität Köln zugeschickt. Die Sektion zeigte außer einer leichten Hyperämie des Darmes keinen besonderen pathologischen Befund; keine Hämorrhagien, keine Abszesse, keine Milzvergrößerung.

1) Vgl. Pfeiler: Durch Paratyphaceen bedingte Tierkrankheiten in Bd. 3 (1919) von Weichardts Ergebnissen.

Die bakteriologische Untersuchung vn Leber, Milz, Herzblut und Darminhalt ergab bei allen Tieren den gleichen Befund: es wurde ein dem Eberth-Gaffkyschen Typhusbakterium kulturell und serologisch sehr nahestehender Mikroorganismus gezüchtet, der sich in Herzblut, Leber und Milz in großer Menge in Reinkultur, im Darminhalt nur vereinzelt neben zahlreichen anderen Darmkeimen, meistens Bact. coli, nachweisen ließ. Sämtliche aus den einzelnen Organen isolierten Stämme verhielten sich kulturell und agglutinatorisch vollkommen gleich.

1) Morphologisch handelt es sich um ein gramnegatives, an den Enden leicht abgerundetes Stäbchen; es war in Form und Größe von echten Typhusbakterien, die gleichzeitig auf demselben Nährboden ausgesät waren, nicht zu unterscheiden, nur war es im Gegensatz zu diesem unbeweglich. Geißelfärbung (nach A. Peppler) negativ.

2) Kulturelle Eigenschaften: Conradi-Drigalski-Agar: blaue Kolonien; Endo-Agar: farblose Kolonien; Malachitgrünagar: ziemlich kleine Kolonien, keine Verfärbung des Nährbodens, keine Wallbildung bei Zimmerwärme. Neutralrottraubenzuckeragar in hoher Schicht: keine Gasbildung, keine Verfärbung. Lackmusmolke nach Petruschky: leichte Rötung, kein Umschlag nach blau. Trypsinbouillon: keine Indolbildung. Milch: keine Gerinnung. Gelatinestich: keine Verflüssigung. Zuckervergärung in Peptonlösungen mit 1 Proz. Zuckergehalt: Dextrose, Maltose, Lävulose und Galaktose werden unter starker Säurebildung gespalten; Saccharose und Laktose hingegen nicht.

Die Rhamnosereaktion (Knopfbildung auf 1proz. Rhamnoseagar, nach Reiner Müller ein sicheres Kriterium für echte Typhusbakterien) fiel negativ aus, während einige auf die gleichen Nährböden geimpfte echte Typhuslaboratoriumsstämme gute Knopfbildung erkennen ließen. Auf diesem Rhamnosenährboden war auch in den nach Reiner Müllers Angaben pfennigstückgroß ausgestrichenen Kolonienrasen das Aussehen der untersuchten Hühnertyphusstämme undurchsichtiger und im durchfallenden Lichte weißlicher als das der mehr durchsichtig-bläulich wachsenden echten Typhusstämme. Die Hühnertyphuskolonien gleichen also der auf Rhamnoseagar durch Knopfbildung entstehenden Mutante der menschlichen Typhusbakterien.

3) Tierpathogenität: Kaninchen: $^1/_4$ Oese lebender Hühnertyphusbakterien intravenös: tot nach 4 Tagen. In allen inneren Organen reichlich Hühnertyphusbakterien.

Maus I $^1/_4$ Oese, intraperitoneal, tot nach 2 Tagen
Maus II $^1/_{10}$ Oese, intraperitoneal, tot nach 3 Tagen
Maus III 5 Tropfen einer 24 Std. alten Bouillonkultur verfüttert; tot nach 10 Tagen.

Bei allen 3 eingegangenen Mäusen wurden in den inneren Organen reichlich Hühnertyphusbakterien nachgewiesen.

Taube: $^1/_2$ Oese intramuskulär in den Brustmuskel. Tier anscheinend einige Tage krank, jedoch nicht eingegangen. Auch Kraus hat gefunden, daß Hühnertyphusbakterien Tauben nicht töten.

4) Agglutination: Sämtliche Hühnerstämme wurden von Typhusimmunserum nach 2 Std. bei 37° bis zum Endtiter stark agglutiniert. In Paratyphus B- sowie in Flexner-, Shiga- und Y-Serum war die Agglutinationsreaktion negativ (1:50). In einem durch intravenöse Einspritzung abgetöteter Hühnertyphusbakterien (0,2 und 0,5 und 1,0 Oese in je 5 Tagen Zwischenzeit) hergestellten Kaninchenimmunserum hatte die Agglutination folgendes Ergebnis:

	nach 2 Std. 37°	nach 16 Std. Zimmerwärme
Stamm Huhn II	1:1600 ± 3200 —	1:6400 +
„ „ III	1:1600 ± 3200 +	1:6400 +
„ „ IV	1:1600 ± 3200 ±	1:6400 +
Typhus Lab.-Stamm	1:3200 ±	1:6400 +
Paratyphus B-Stamm	1:200 +	1:200 +

Die untersuchten Bakterien sind also agglutinatorisch, in den meisten Punkten auch kulturell den Eberth-Gaffkyschen Typhusbakterien gleich. Sie unterscheiden sich von diesen

1) durch die fehlende Beweglichkeit, 2) durch das Fehlen der Müllerschen Rhamnosereaktion, und 3) durch ihre andersartige Tierpathogenität, insbesondere bei Fütterung.

Suchen wir nach ähnlichen Stämmen in der Literatur, so können wir sagen, daß sicherlich unsere Hühnertyphusbakterien mit den von Pfeiler und Röpke beschriebenen Hühnertyphusstämmen und damit auch mit dem von Klein in England und Irland gefundenen Bacterium gallinarum (von Lehmann und Neumann wohl zu Unrecht in der Gruppe der Bakterien der hämorrhagischen Septikämien aufgeführt) identisch sind. Auch die von van Straaten und Te Hennepe in Holland und von Kraus in Prag beschriebenen Erreger von Hühnerepizootien dürften hierhin gehören. (Ausführliche Darlegung zu dieser Frage bei Pfeiler 1921.) Auch die vor kurzem erschienene Arbeit von Ebert und Schulgina sei hier erwähnt, in der u. a. 4 Laboratoriumsstämme aus dem bakteriologischen Laboratorium des Petersburger Landwirtschaftlichen wissenschaftlichen Instituts näher beschrieben werden, die aus 3 Tauben und 1 Hahn isoliert waren; auch diese Stämme waren den echten Typhusbakterien morphologisch, kulturell und agglutinatorisch vollkommen gleich. Von unseren Stämmen unterscheiden sie sich dadurch, daß sie, wie die echten Typhusbakterien, beweglich sind.

Ueberblicken wir unsere Ergebnisse, so ist das Auffallendste zunächst, daß bei einer Hühnerseuche sich Bakterien finden, die in der Agglutination mit dem Eberth-Gaffkyschen Bacterium typhi des Menschen übereinstimmen, trotzdem aber in ihren pathogenen Eigenschaften, in der Kultur und in der Beweglichkeit verschieden sind. Es sind also das Bact. gallinarum und das Bact. typhi trotz gleicher Agglutinabilität verschiedene Krankheitserreger. Ein entsprechendes Beispiel haben wir schon in der Aehnlichkeit der Schottmüllerschen Paratyphus B-Bakterien mit den Fleischvergiftungsbakterien vom Typus Breslau (Aertrycke, Bact. breslaviense). Bei diesen haben wir als regelmäßiges Unterscheidungsmerkmal junger Kulturen — trotz gleicher Agglutination — das schleimige Wachstum der Paratyphus B-Bakterien, welches, wie Reiner Müller zuerst festgestellt hat, nur bei niedriger Temperatur stattfindet, und das Fehlen dieses Kulturmerkmals bei den Breslau-Bakterien; ferner Unterschiede in der Raffinosereaktion und bei der Mäusefütterung, ganz abgesehen von der Verschiedenheit der Epidemiologie und des klinischen Verlaufs beim Menschen.

Bei dem Bacterium melitense und dem Bakterium des Rinderabortus besteht ebenfalls gleiche Agglutinabilität trotz verschiedener Pathogenität; aber diese verhalten sich auch in allen Kultur- und anderen Eigenschaften gleich.

Wie man bei Maltafieber und Rinderabortus wegen der völligen Gleichheit der Bakterien (abgesehen von der Pathogenität) die nahe-

liegende Vermutung ausgesprochen hat, daß beide nur Standortsvarietäten seien, angepaßt an Rind oder an Ziege, so drängt sich auch für die Hühnertyphus- und die Menschentyphusbakterien eine entsprechende Hypothese auf. Die exakte Bakteriologie muß aber größeren Wert, als auf solche Vermutungen, auf beobachtete Tatsachen legen, und so wird es eine Aufgabe der Zukunft sein, in Kulturen oder in Tierversuchen nach dieser nicht unmöglichen Verwandlung von Bact. gallinarum in Bact. typhi, oder umgekehrt, zu suchen, um so mehr, als die erstere Umwandlung (etwa im Menschen) für den Hygieniker große Bedeutung haben würde. Ehe nicht solche Tatsachen beobachtet sind, ist es müßig, in solchen Fällen von Standortvariationen oder von Mutation zu sprechen. Sehr wohl könnte, wenn überhaupt eine Verwandlung vorliegt, auch Bact. typhi im Huhne zu einem nun nicht mehr zurückschlagenden Bact. gallinarum verändert sein, entsprechend der Mutation des Menschenpockenerregers in den Kuhpockenerreger, während die umgekehrte Verwandlung der Vaccina in Variola noch niemandem gelungen ist.

Die grundlegenden Versuche d'Herelles über die Natur der Bakteriophagen sind zum großen Teile mit Bakteriophagen angestellt, die er aus Hühnertyphus-Epidemien (Bact. gallinarum Klein) gewonnen hat. Angeregt durch diese Versuche, zum Teil aber auch in der Hoffnung, gegen unsere Stämme wirksame Bakteriophagen zu Heilzwecken verwenden zu können, machten auch wir einige Versuche in dieser Richtung, jedoch gelang es uns nicht, aus dem Darminhalt der eingegangenen oder erkrankten Tiere irgendwelche Bakteriophagen gegen Typhus-, Paratyphus B-, Shiga-Kruse-, Flexner-, Y-, Ruhr- und 3 Hühnertyphusstämme nachzuweisen. Wohl gelang es etwa 14 Tage später, aus dem Kote von genesenen Tieren Bakteriophagen für die 3 Ruhrstämme, jedoch nicht für Typhus-, Paratyphus B- und 3 Hühnerstämme, nachzuweisen. Unsere Versuche sind jedoch nicht zahlreich genug für ein abschließendes Urteil.

Zusammenfassung.

Das bei einer Hühnertyphusepizootie gefundene Bact. gallinarum (Klein) ist dem Eberth-Gaffkyschen Bact. typhi sehr ähnlich, insbesondere in der Agglutination ist es ihm ganz gleich. Unterschiede sind: Bei Bact. gallinarum fehlt die Beweglichkeit, fehlt die Rhamnosereaktion nach Reiner Müller; seine andersartige Pathogenität kommt besonders im Fütterungsversuch zum Ausdruck.

Literaturangabe.

1) Ebert u. Schulgina, Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 91. 1924. S. 496. — 2) Klein, ebenda. Bd. 5. 1889. S. 689; Bd. 6. 1889. S. 257; Bd. 15. 1895. S. 105. — 3) Kraus, ebenda. Abt. I. Orig. Bd. 82. 1919. S. 282. — 4) Lehmann-Neumann, Atlas u. Grundriß d. Bakteriologie. München 1920. — 5) Müller, Reiner, Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 58. S. 97; D. M. W. 1910. S. 2387. — 6) Pfeiler, Weichardts Ergebn. Bd. 3. 1919; Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 85. 1920. S. 193; ebenda. Abt. I. Orig. Bd. 83. 1919. S. 369. — 7) Pfeiler u. Rehse, Mitteil. a. d. Inst. f. Landw. Bromberg. Bd. 5. 1913. S. 306. — 8) Pfeiler u. Roepke, Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 79. 1917. S. 125.

Nachdruck verboten.

Beitrag zur Aetiologie und Prophylaxe des Rauschbrandes und des malignen Oedems der Wiederkäuer.

[Aus dem Institut für Seuchenlehre der k. ung. Tierärztlichen Hochschule in Budapest (Direktor: Hofrat Prof. Dr. F. v. Hutyra).]

Von Prof. Dr. **R. Manninger.**

I.

Die Anschauungen über die Aetiologie des Rauschbrandes und der rauschbrandähnlichen Erkrankungen der Wiederkäuer haben in den letzten Jahren eine Wandlung erfahren. Zeißler und Hempl-Heller sind nämlich auf Grund sehr eingehender Untersuchungen zu dem Schlusse gelangt, daß beim sog. Rauschbrand der Rinder in manchen Fällen nicht der echte Rauschbrandbazillus (B. Chauveaui, Fothscher Rauschbrandbazillus, B. sarcophysematos, B. gangraenae emphysematosae), sondern in etwa einem Drittel der Fälle der Oedembazillus[1]) die Krankheit verursacht. Auch bei Schafen sind bei klinisch und anatomisch als Rauschbrand erscheinenden Fällen bald Rauschbrandbazillen, bald Oedembazillen festgestellt worden. Aehnliche Verhältnisse sind bei Schafen auch für die Fälle nachgewiesen worden, wo klinisch malignes Oedem vorgelegen hat. Es hat sich nämlich gezeigt, daß bei Schafen rauschbrandähnliche Erkrankungen im Anschluß an Verletzungen nicht nur durch Oedembazillen, sondern auch durch echte Rauschbrandbazillen verursacht werden können (Spiegl, Knall, Mießner u. Albrecht, Raebiger u. Spiegl u. a.). Hingegen scheinen bei Rindern rauschbrandähnliche anaërobe Infektionen, die sich im Anschluß an Verletzungen entwickeln, stets nur durch Oedembazillen bedingt zu sein (Zeißler).

Da nun gegen die Feststellungen von Zeißler Foth, der an der ätiologischen Einheit des spontanen Rauschbrandes bei Rindern auf Grund seiner reichen Erfahrungen festhält, den Einwand geltend gemacht hat, daß die Untersuchungen Zeißlers, wie auch jene von Hempl-Heller, an eingetrockneten, zum Teil seit Jahren aufbewahrten Muskelproben, mithin an einem Material angestellt worden sind, dessen Ursprung nicht immer hinreichend bekannt war, so gestatte ich mir die Ergebnisse meiner Untersuchungen über die Aetiologie des Rauschbrandes und des malignen Oedems der Wiederkäuer mitzuteilen, wo nur frisches Material, dessen Ursprung hinlänglich bekannt war, berücksichtigt worden ist.

1) Ich bezeichne nach Hutyra und Marek (Spezielle Pathol. u. Ther. d. Haustiere. 6. Aufl. Bd. I. S. 39) als Oedembazillus diejenige Bakterienart, die von Pasteur Vibrion septique und von Koch und Gaffky B. oedematis maligni benannt, neuerdings vielfach als Kittscher Rauschbrandbazillus (Zeißler) oder als Pararauschbrandbazillus (B. parasarcophysematos Mießner) angeführt wird und u. a. auch mit dem Bradsot-Bazillus und dem Ghon-Sachsschen Oedembazillus identisch ist.

Bei diesen Untersuchungen bediente ich mich nicht der zurzeit bereits in vielen Laboratorien üblichen Zeißlerschen Anaërobentechnik, sondern verwendete zur Gewinnung von isolierten Kolonien schräg erstarrten gewöhnlichen Agar von einer Alkalität pH = 7,6 sowie Serumagar (1:3) und benutzte zur Differenzierung der aus Einzelkolonien gewonnenen Reinkulturen neben dem einfachen Tierversuch noch einige andere Nährböden, besonders Hiblerschen Hirnbrei und Milch, wobei ich bei der Artbestimmung besonders den Gesichtspunkten in den Arbeiten von Hibler, Foth, Uchimura, Zeißler und Hempl-Heller gefolgt bin. Es sei gleich hier vorweggenommen, daß ich bei diesen Untersuchungen in der Tiefe von Muskelproben stets nur je 1 Bakterienart, und zwar entweder den Rauschbrandbazillus oder den Oedembazillus, vorfand, Mischinfektionen dagegen, wie sie beispielsweise von Zeißler beschrieben worden sind, bisher noch nicht begegnet bin. Auch habe ich bisher den Fraenkelschen Bazillus selbst bei Schafen, wo ihn Spiegl sowie Mießner und Albrecht u. A. einigemal vorgefunden haben, noch nicht angetroffen.

Das der Mitte der Muskelstücke entnommene Material verrieb ich unter strenster Beachtung der Regeln der Aseptik mit etwas physiol. Kochsalzlösung und verimpfte davon ein wenig auf eine Serie von Röhrchen mit schiefem Agar und schief erstarrtem Serumagar. Meist genügte die Beimpfung von je 3 Röhrchen, um gut isolierte Kolonien zu erhalten. Dann wurden die Röhrchen unter Zuhilfenahme von Pyrogallussäure und 50proz. Kalilauge anaërob bei 37° bebrütet.

Die Unterschiede, die sich zwischen Rauschbrand- und Oedembazillen bemerkbar machten, lassen sich im folgenden zusammenfassen:

Bei Rauschbrandbazillen kam es auf gewöhnlichem Agar, wie dies bereits von Sobernheim und von Uchimura festgestellt worden ist, niemals zur Kolonieentwicklung, dagegen wuchsen Oedembazillen in Form ähnlicher, wenngleich weniger üppiger Kolonien, wie auf Serumagar. Hingegen erfolgte stets Wachstum auf der Oberfläche von Serumagar, gleichviel ob es sich um Rauschbrandbazillen oder um Oedembazillen handelte. Die Kolonien des Rauschbrandbazillus sind entweder kreisrund oder etwas gelappt, anfänglich, im Alter von 1—3 Tagen, ganz flach, später, im Alter von mehr als 3 Tagen, entwickelt sich an der Peripherie der Kolonien eine wallartige Umrandung. Die Kolonien des Oedembazillus sind anfänglich, nach 12- bis 18stünd. Bebrüten, ebenfalls rund oder oval, lassen jedoch bei schwacher Vergrößerung unter dem Mikroskop feinste Ausläufer erkennen, so daß die Kolonien gewissermaßen an Knochenzellen erinnern. Später, in der Regel bereits nach 24—48 Std., lassen sich an isolierten Kolonien rundherum fingerähnliche Ausläufer feststellen, dabei ist die Kolonie ganz flach, äußerst zart und unterscheidet sich kaum von der Grundlage, so daß ihr Auffinden einige Uebung erfordert. Sind im Aussaatmaterial viele Keime enthalten, so verschmelzen die Kolonien, und es entsteht ein die Oberfläche fast ganz bedeckender, beinahe unsichtbarer Rasen, dessen Vorhandensein nur dadurch erkannt werden kann, daß sich gegen das obere Ende der Serumagarfläche, wo die Wachstumsbedingungen weniger günstig sind, fingerähnliche Kolonienausläufer von dem unbewachsenen Kulturmedium abheben. Ab und zu finden sich übrigens auch Kolonien, die jenen des Rauschbrandbazillus ähnlich sehen; sie sind kreisrund

ohne Ausläufer, nur sind sie flacher als Rauschbrandkolonien und gehen nach Ueberimpfen auf gewöhnlichen Agar nicht an.

Hieraus ergibt sich, daß die Rauschbrandbazillen und die Bazillen des malignen Oedems auf Grund ihres Wachstums auf gewöhnlichem Agar unterschieden werden können. Dabei ist es jedoch unerläßlich, einige Röhrchen der verwendeten Nährböden zur Kontrolle auch mit mehreren bereits identifizierten Stämmen zu beschicken, da es sonst vorkommen könnte, daß ein Oedembazillenstamm für einen Rauschbrandbazillenstamm angesprochen wird, falls der verwendete Agarnährboden zufällig auch den Oedembazillen nicht bekömmlich sein sollte.

Im Hiblerschen Hirnbrei verhalten sich beide Arten gleichartig. Dieser Nährboden reagiert nach der Entwicklung der Bazillen beiderlei Arten sauer, ist demzufolge rosafarbig und läßt keine faulig riechenden Gase entweichen. Auch in der Milch bekunden die Rauschbrand- und Oedembazillen gleichartiges Verhalten. Milch bleibt nämlich nach dem Beimpfen sowohl mit Rauschbrandbazillen, als auch mit Oedembazillen entweder unverändert oder gerinnt erst nach 5—7 Tagen allmählich.

Auch in Hinsicht der Sporenresistenz zeigten die beiderlei Arten ein gleichsinniges Verhalten. Gut versporte Kulturen wurden nach dem Vorgange von Zeißler und Becker der Siedehitze ausgesetzt. Es zeigte sich dabei, daß keine der untersuchten Kulturen Sporen enthielt, die wenigstens 20 Min. lang der Einwirkung der Siedehitze standhalten konnten.

Für Meerschweinchen sind beide Arten pathogen. Nach Verimpfung von Material aus Hirnbreireinkulturen unter die Bauchhaut verenden die Tiere meist innerhalb 24 Std. Bei der Zerlegung läßt sich sulzig-blutige Infiltration des Unterhautbindegewebes (mit oder ohne Gasbläschen), ferner manchmal blutige Infiltration der Schenkelmuskulatur, Injektion des Bauchfelles und in der Bauchhöhle rötliches Exsudat feststellen, einerlei, ob die Infektion mit Rauschbrandbazillen oder mit Oedembazillen vorgenommen worden ist. Mikroskopisch lassen sich in Ausstrichpräparaten vom Bauchfell, besonders schön in Abklatschpräparaten von der Zwerchfelloberfläche der Leber, die Rauschbrandbazillen in Form einzeln oder zu zweien gelegener kurzer Bazillen, seltener in Form von 4—8gliedrigen Kettenverbänden, niemals jedoch als ungegliederte Fäden nachweisen, dagegen finden sich die Bazillen des malignen Oedems auch in Kadavern, die allsogleich nach dem Tode zur Verarbeitung gelangen, zum Teil als lange, ungegliederte Fäden vor. Ausnahmen von dieser Regel kommen mitunter insofern vor, als Oedembazillen gelegentlich gleich nach dem Tode noch nicht zu Fäden ausgewachsen angetroffen werden.

In dieser Hinsicht kommt somit, wenngleich nur in beschränktem Maße, auch der mikroskopischen Untersuchung bei der Differenzierung der in Rede stehenden Keime Beweiskraft zu. Sonst habe ich zwischen Rauschbrandbazillen und Oedembazillen weder in Kulturen, noch in tierischen Geweben Unterschiede morphologischer Natur beobachtet, die sich differential-diagnostisch verwerten ließen.

Auf Grund der geschilderten Eigenschaften ließen sich die Rauschbrandbazillen und Oedembazillen in jedem Falle ohne Schwierigkeiten unterscheiden.

Aus veränderten Rindermuskeln züchtete ich in 18 Fällen Reinkulturen. Die Rinder, aus denen die untersuchten Muskelproben herstammten, sind nach den Beschreibungen der betreffenden Tierärzte an spontanem Rauschbrand eingegangen. Von den 18 Muskelproben, die aus 18 verschiedenen Gemeinden stammten, isolierte ich aus 16 Rauschbrandbazillen, in 2 ließen sich Rauschbrandbazillen nicht vorfinden, dagegen waren in diesen Oedembazillen in Reinkulter vorhanden. In diesen 2 Fällen sind in den Kaumuskeln bzw. in der Kruppenmuskulatur gasbrandige Veränderungen nachgewiesen worden, die sich anatomisch von den Veränderungen an den übrigen 16 Muskelproben nicht unterscheiden ließen. Die rauschbrandartigen Erkrankungen von Rindern, die in Rauschbrandgebieten ohne äußerliche Verletzungen entstehen, werden somit in der überwiegenden Mehrzahl der Fälle durch den Rauschbrandbazillus verursacht, in selteneren Fällen vermag jedoch auch der Oedembazillus ähnliche Erkrankungen hervorzurufen.

Vom ätiologischen Gesichtspunkte betrachtet, erwiesen sich daher die klinisch und anatomisch als Rauschbrand erscheinenden Erkrankungen bei Rindern in der Mehrzahl der Fälle tatsächlich als Rauschbrandinfektionen; einzelne Fälle müßten jedoch als malignes Oedem (Pararauschbrand Mießners) bezeichnet werden.

Von Rindern stand mir aus Fällen, wo anaërobe Infektionen im Anschluß an äußerliche Verletzungen oder an die Geburt zustandegekommen sind, kein Material zur Verfügung. Zeißler hat in 5 solchen Fällen stets den Oedembazillus allein vorgefunden.

Aus Schafen verfügte ich über ein reichhaltigeres Material.

In 3 Schafbeständen ereigneten sich von Zeit zu Zeit während des Aufenthaltes auf Weiden, die auch für Rinder als gefährlich bekannt sind, ohne vorangegangene Verletzungen Todesfälle, wo bei der Zerlegung rauschbrandartige Veränderungen vorgefunden wurden. In diesen Fällen, wo es sich somit um spontanen Rauschbrand gehandelt haben dürfte, ließen sich in den eingesandten frischen Muskelstücken Rauschbrandbazillen in Reinkultur nachweisen. Da es sich bloß um Material aus 3 Beständen handelt, so erscheint es unangemessen, dieses Ergebnis zu verallgemeinern, daher begnüge ich mich einfach mit der Feststellung, daß auf Rauschbrandweiden auch unter Schafen ohne vorangegangene Verletzungen Rauschbrandfälle vorkommen, die durch den Rauschbrandbazillus bedingt sind.

In 4 Schafbeständen kamen rauschbrandähnliche Erkrankungen im Anschluß an Verletzungen vor.

Im Bestande A ereigneten sich einige Tage nach der Schutzimpfung gegen Milzbrand in größerer Zahl Erkrankungen, in deren Verlauf sich von der Impfstelle ausgehend in verschiedenen Muskeln rauschbrandähnliche Veränderungen entwickelten. In einer Muskelprobe, die ich der Liebenswürdigkeit des Herrn Prof. Dr. K. Jármai verdanke, gelang es mir, außer dem B. putrificus Oedembazillen nachzuweisen. Bei dieser Muskelprobe handelte es sich allerdings nicht um frisches Material, sondern um ein vor 5 Jahren eingetrocknetes Muskelstückchen. Ich führe diesen Fall nur an, weil die Umstände bei dieser Enzootie genau bekannt sind.

Im Bestande B machte sich bei einem Mutterschafe einige Tage nach einer Schwergeburt aus der Gebärmutter mißfarbiger Ausfluß

bemerkbar. Die Umgebung der Schamlippen schwoll an und das Tier fing an, auf einem Hinterfuß zu hinken. Bei der Zerlegung, die 6 Std. nach dem Tode im Institut vorgenommen worden ist, ließen sich folgende Veränderungen nachweisen. Die verschiedensten Organe, sowie das Blutgerinnsel im Herzen enthielten viel Gas und die Schenkelmuskulatur zeigte rauschbrandartiges Aussehen, das Muskelgewebe war schwarzrot verfärbt und zwischen den Muskelzügen fand sich viel gashaltige, lackfarbige Flüssigkeit vor. Durch die bakteriologische Untersuchung wurde der Oedembazillus nachgewiesen, und zwar in den veränderten Muskeln und im Herzblute in Reinkultur, in den Mutterkuchen dagegen in Gesellschaft von B. putrificus und verschiedener aërober Bakterien.

In diesen beiden Fällen handelte es sich folglich um anaërobe Infektionen im Anschluß an Verletzungen, die durch den Oedembazillus bedingt waren.

Im Bestande C. kamen in einer Herde von 78 Jährlingen nach der Kastration vom 3. Tage an Todesfälle vor, deren Zahl am 5. Tage auf 65 gestiegen war. Bei der Zerlegung sind die Schenkelmuskeln, bei manchen Tieren auch andere Muskeln, fahlgelb und zunderartig befunden worden, Blutungen oder blutige Durchtränkung der Muskeln waren jedoch nicht vorhanden. Zur bakteriologischen Untersuchung kamen von 6 Kadavern Muskeln, in denen ausnahmslos der Rauschbrandbazillus in Reinkultur nachgewiesen werden konnte.

Im Mutterschafbestande derselben Wirtschaft ereigneten sich kurz nachher im Anschluß an Verletzungen bei der Schur ähnliche Erkrankungen, in deren Folge von 600 Schafen 11 zugrunde gegangen sind. Auch bei diesen Tieren ließen sich aus den veränderten Muskeln ausschließlich nur Rauschbrandbazillen reinzüchten.

Endlich sind im Bestande D ebenfalls mehrere Schafe einige Tage nach der Schur gefallen. Bei einem eingesandten Muskelstück erweckten der Gasblasengehalt, die schwarzrote Verfärbung der Muskelfasern und des intermuskulären Bindegewebes sowie die lackartige Beschaffenheit der von der Schnittfläche abgehobenen Flüssigkeit Verdacht auf eine anaërobe Infektion. Durch die bakteriologische Untersuchung wurden auch in diesem Falle Rauschbrandbazillen in Reinkultur nachgewiesen.

Hieraus folgt, daß bei Schafen rauschbrandähnliche Erkrankungen im Anschluß an Verletzungen nicht nur durch Oedembazillen, sondern auch durch Rauschbrandbazillen bedingt sein können.

Die mitgeteilten Versuchsergebnisse lassen sich dahin zusammenfassen, daß beim sogenannten spontanen Rauschbrand der Rinder in der Mehrzahl der Fälle echter Rauschbrand, in Ausnahmefällen dagegen malignes Oedem (Pararauschbrand) vorliegt. Bei Schafen fand sich bei spontanem Rauschbrand stets der Rauschbrandbazillus vor, es handelte sich daher um echten Rauschbrand, in rauschbrandähnlichen Fällen im Anschluß an Verletzungen ließ sich dagegen bald echter Rauschbrand, bald malignes Oedem feststellen.

II.

Da somit rauschbrandähnliche Erkrankungen der Wiederkäuer in klinisch und anatomisch übereinstimmenden Fällen durch verschiedene

anaërobe Bakterien bedingt werden können, so kann die Bekämpfung der hier in Rede stehenden Krankheiten mit spezifischen Vakzinen nur dann von Erfolg sein, falls der betreffende Impfstoff dem jeweiligen Erreger entsprechende Antigenstoffe enthält, am ehesten folglich mit Impfstoffen, die Antigene sowohl des Rauschbrandbazillus, als auch des Oedembazillus enthalten.

Da unabhängig voneinander Nitta sowie Gräub und Zschokke zeigten, daß es gelingt, mit Filtraten von Rauschbrandkulturen Tiere gegen den Rauschbrand erfolgreich zu immunisieren, versuchte ich auf ähnliche Weise einen bivalenten Impfstoff herzustellen, der den Impflingen nicht nur gegen den Rauschbrand, sondern auch gegen das maligne Oedem aktiven Schutz verleihen sollte.

Vorerst untersuchte ich die immunisierende Wirkung von Kulturfiltraten des Rauschbrandbazillus und des Oedembazillus, die ich nach dem Vorgange von Gräub und Zschokke herstellte. Zu diesem Zwecke beimpfte ich Leberbouillon mit Reinkulturen je eines Anaërobenstammes, ließ die Kultur 3—4 Wochen lang bei 37° bebrüten, um dann die Bouillon vorerst durch Filtrierpapier und nachher durch ein Bakterienfilter zu schicken.

Die auf diese Weise erhaltenen keimfreien Filtrate waren in hohem Grade ungiftig, da Meerschweinchen davon bis 20 ccm, Schafe und Rinder mehr als 50 ccm unter die Haut verabfolgt vertrugen, ohne daß von einer vorübergehenden Anschwellung der Impfstelle und bei manchen Schafen, von einer ebenfalls vorübergehenden Erhöhung der Körpertemperatur abgesehen, Gesundheitsstörungen zur Beobachtung gelangt wären. Schafe und Rinder vertrugen Mengen von 5—10 ccm selbst ohne Anschwellung der Impfstelle.

Von solchen Filtraten spritzte ich zur Prüfung ihrer Immunisierungsfähigkeit je 5 ccm unter die Haut von 24 Meerschweinchen, die dann nach einer gewissen Zeit, meist nach 2—4 Wochen, mit der zweifachen tödlichen Menge von Anaërobiersporen infiziert wurden. Bei diesen Untersuchungen ergab sich, daß die mit Rauschbrandfiltraten verschiedener Stämme geimpften Meerschweinchen, ähnlich wie in den Versuchen von Gräub und Zschokke, gegen die krankmachende Wirkung einer Rauschbrandsporenemulsion beliebiger Herkunft geschützt waren, durch Oedemsporen dagegen getötet wurden. Desgleichen ließ sich nachweisen, daß auch Filtrate verschiedener Oedembazillenkulturen nur gegen die sonst tödliche Wirkung von Oedemsporen aktiven Schutz entstehen ließen.

Diese Versuche lehrten folglich, daß die antigenen Eigenschaften der Rauschbrandbazillen und der Oedembazillen voneinander verschieden sind, daß sich jedoch verschiedene Stämme innerhalb einer Bakterienart in immunisatorischer Hinsicht gleichartig verhalten.

Nach den günstigen Ergebnissen dieser Versuche impfte ich zwei 1 Jahr alte Schafe mit je 5 ccm eines bivalenten Impfstoffes, das ein Gemisch von Rauschbrand- und Oedemkulturfiltraten darstellte, und infizierte nach 25 Tagen diese Tiere sowie ein drittes unbehandeltes Kontrollschaf mit der vierfachen tödlichen Menge von Rauschbrandsporen. Dieser Versuch führte zu dem Resultat, daß das Kontrolltier am anderen Tage, 19 Std. nach der Infektion, bereits schwerkrank angetroffen wurde. Es fieberte (die Körpertemperatur betrug 40,3° C), und an dem Hinterfuße, an dessen Innenfläche das virulente Material

unter die Haut gespritzt worden war, war eine mächtige knisternde Geschwulst entstanden, die alsbald auch auf die Kniefaltengegend übergriff und dann 32 Std. nach der Infektion den Tod des Tieres zur Folge hatte. Hingegen überstanden die mit Filtrat immunisierten Schafe spurlos die Ansteckung, es zeigten sich an ihnen weder Störungen im Allgemeinbefinden, noch Anschwellung der Impfstelle.

Auf Grund dieser Versuchsergebnisse wurden in Ungarn mit bivalentem Impfstoff auch in der Praxis Impfungen in größerem Umfange vorgenommen. Ueber die Erfahrungen in der Praxis hat Köves bereits anderenorts ausführlich berichtet. Nach seinen Angaben gelingt es auf diese Weise, sowohl Rindern als auch Schafen einen ausreichenden Schutz gegen Rauschbrand und malignes Oedem zu verleihen. Es zeigte sich nämlich, daß im Laufe des Jahres 1923 in jenen Beständen, die nachgewiesenermaßen auf infizierten Gebieten weideten, auch unter Rindern nur 0,28 Proz. Verluste zu verzeichnen waren, unter Schafen dagegen überhaupt keine Todesfälle an den genannten Krankheiten auftraten.

Die mitgeteilten Versuche bestätigen somit die Ergebnisse von Nitta sowie von Gräub u. Zschokke u. A. und gestatten die weitere Schlußfolgerung, daß es mit Kulturfiltraten gelingt, Tiere nicht nur gegen Rauschbrand, sondern auch gegen malignes Oedem zu immunisieren.

Literatur.

Becker, Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 84. 1920. S. 71. — Foth, Zeitschr. f. Infektionskrankh. d. Haustiere. Bd. 10. 1911. S. 1; Bd. 23. 1922. S. 1. — Gräub u. Zschokke, Schweiz. Arch. f. Tierheilkunde. Bd. 62. 1920. S. 52. — Hempl-Heller, Journ. inf. Dis. Vol. 27. 1920. p. 385. — Hibler, Die pathogenen Anaëroben. Jena (Fischer) 1908. — Knall, Dtsch. tierärztl. Wochenschr. 1924. S. 66. — Köves, Allatorvosi Lapok [ungarisch]. 1924. p. 31. — Mießner u. Albrecht, Dtsch. tierärztl. Wochenschr. 1924. S. 49. — Nitta, ref. in Schweiz. Arch. f. Tierheilk. Bd. 62. 1920. S. 406. — Raebiger u. Spiegl, Zeitschr. f. Infektionskrankh. d. Haustiere. Bd. 26. 1924. S. 208. — Spiegl, Dtsch. tierärztl. Wochenschr. 1920. S. 467. — Uchimura, Zeitschr. f. Hyg. Bd. 92. 1921. S. 291. — Zeißler, Zeitschr. f. Infektionskrankh. d. Haust. Bd. 21 1920. S. 1. — Zeißler u. Raßfeld, Dtsch. tierärztl. Wochenschr. 1922. S. 300

Nachdruck verboten.

Versuche über die Flüchtigkeit und Kochbeständigkeit des d'Herelleschen Bakteriophagen.

[Aus dem Hygiene-Institut der Universität Greifswald (stellvertr. Direktor: Prof. Dr. Carl Prausnitz).]

Von Dr. **Gertrud Meißner**, 1. Assistentin am Institut.

Mit 3 Abbildungen im Text.

Olsen u. Yasaki[1]) teilten 1923 Versuche mit, aus denen hervorzugehen schien, daß das d'Herellesche Virus destillierbar und flüchtig wäre. Bei der Nachprüfung konnten sowohl Gildemeister u. Herz-

1) Olsen, O., u. Yasaki, Y., Klin. Woch. 1923. S. 1879; ebenda, 1924. S. 278, 279.

berg[1]), wie Borchardt[2]) und auch Späth[3]) diese Angaben nicht bestätigen. Gildemeister u. Herzberg und Borchardt wiesen besonders auf die Gefahr des Ueberganges von Tröpfchen in das Destillat hin: wenn sie beim Kochen den Uebergang von kleinsten Teilchen in das Verbindungsrohr zwischen Destillationskolben und Kühler durch geeignete Vorrichtungen verhinderten, erhielten sie keine Bakteriophagenwirkung im Destillat, arbeiteten sie aber ohne die Vorrichtungen, so erhielten sie positive Ergebnisse.

Unabhängig von ihnen habe auch ich eine größere Reihe von Untersuchungen über die gleichen Fragen ausgeführt, die angesichts der grundsätzlichen Wichtigkeit des Problems nachstehend veröffentlicht werden sollen.

I.

Der erste Teil meiner Versuche betraf die angebliche Flüchtigkeit des Lysins. Wenn sie in nennenswertem Maße bestand, mußte es möglich sein, den Lysingehalt der Bouillon durch längerdauerndes Durchleiten von Luft bei Zimmertemperatur oder leichte Erwärmung der Bouillon herabzusetzen. Zu diesem Zwecke wurde durch eine Flasche mit 30 ccm Flexner-Lysinbouillon bei einem Luftdruck von — 7,5 cm Hg Luft in schwachem Strom in 1 Std. lang hindurchgesaugt, dann wurde die Flasche mit dem Lysin in ein Wasserbad von 40° gesetzt und noch 1 weitere Stunde lang Luft unter gleichem Druck hindurchgesaugt (Fig. 1). Vor Beginn und nach Abschluß des 1. und 2. Teiles des Versuches wurden aus dem Kolben Proben entnommen und auf ihren Lysingehalt untersucht: die Proben wurden $^1/_2$ Std. auf 56° erhitzt zur Abtötung von etwa durch die Luft hineingelangten Keimen.

Fig. 1.

Alle 3 Proben wiesen im Verdünnungsversuch den gleichen Lysingehalt auf, es ließ sich also weder bei Zimmertemperatur noch bei 40° eine Verminderung ver Wirksamkeit feststellen, wie sie im Falle der Flüchtigkeit des Bakteriophagen unter diesen Bedingungen hätte nachzuweisen sein müssen.

1) Gildemeister, E., u. Herzberg, K., Klin. Woch. 1924. S. 186, 278.
2) Borchardt, W., ebenda. 1924. S. 278.
3) Spät, W., Med. Klin. 1924. S. 184.

II.

Nachdem es hiermit nicht gelungen war, einen nennenswerten Grad von Flüchtigkeit festzustellen, wurde nunmehr die Frage behandelt, ob bei der Destillation im Vakuum bei etwa 50° auch nur kleinste Lysinmengen in das Destillat übergehen können.

Ich arbeitete mit einem 1-Literkolben, Kniestück, Liebigschem Kühler und Vorlage (Fig. 2 u. 3). Die Regulierung des Vakuums

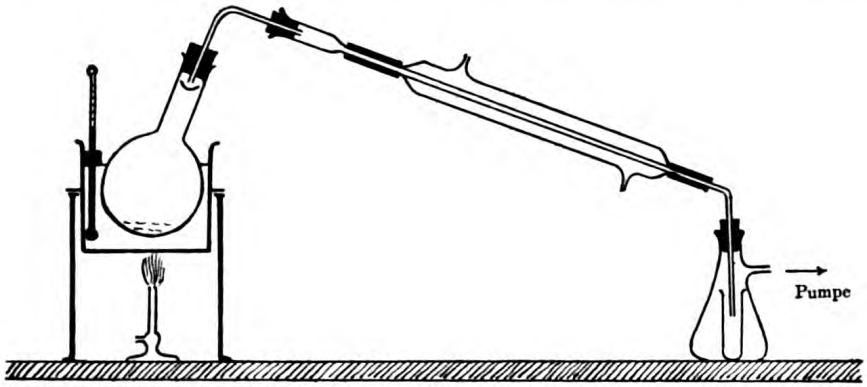


Fig. 2.

erfolgte dureh Einschaltung einer Kapillare zwischen Vorlage und Wasserstrahlpumpe, die nach Bedarf geöffnet wurde. Zur Vermeidung der Tröpfcheninfektion verwandte ich einen halbkugeligen Schutzschirm aus Weißblech von 3 cm Durchmesser mit der Konkavität nach oben, der so angebracht wurde, daß die Mündung des Knierohrs wenige Millimeter über dem Boden des Schirmes stand. Zwischen dem Rand des Schirmes und dem Kolbenhals blieb ein etwa $^1/_2$ cm breiter ringförmiger Raum. Hierdurch sollten Tröpfchen quantitativ zurückgehalten werden, ohne den Weg des Dampfes zu hemmen. Destilliert wurden 10 ccm Flexner-Lysinbouillon bis zu einer Ausbeute von etwa 6 ccm Destillat bei einer Temperatur von 48—51° und einem Luftdruck, der zunächst rasch, dann ganz langsam von 6 bis auf 0,5 cm Hg verringert wurde. Die Prüfung von Rückstand und Destillat erfolgte im Bouillontitrationsversuch nach Appelmans[1]) und Werthemann[2]).

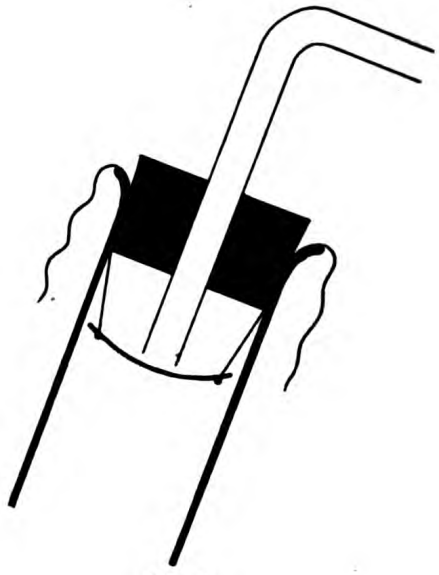


Fig. 3.

1) Appelmans, Compt. rend. Societé de Biol. T. 86. 1922. Fasc. 9.
2) Werthemann, Arch. f. Hyg. Bd. 91. 1923. S. 255.

a) In der einen Reihe wurde bei vorgeschaltetem Schutzschirm unter starkem Kochen mit Blasenbildung — Steigerung des Vakuums von 6 auf 0,5 cm Hg — einige Minuten bis höchstens $^1/_4$ Std. destilliert. Nachdem einige Kubikzentimeter abdestilliert waren, hörte unter dem Einfluß der steigenden Salz- usw. Konzentration das Sieden allmählich auf. Meist war die gewünschte Menge Destillat schon vorher erreicht, sonst wurde noch einige Minuten ohne Kochen weiter destilliert.

Bei 14 so ausgeführten Versuchen war niemals Lysin im Destillat nachzuweisen.

b) In einer zweiten Versuchsreihe wurde ohne Schutzschirm unter möglichster Vermeidung von Blasenbildung destilliert. Hierbei wurde der Luftdruck sehr vorsichtig erniedrigt, und erst wenn die Flüssigkeit nicht mehr kochte, stärkere Luftverdünnung verwendet. Es ließ sich allerdings nicht absolut vermeiden, daß dabei gelegentlich ein kurzes Aufwallen erfolgte, aber durch Oeffnen der Kapillare wurde stets verhindert, daß die Flüssigkeit in den Hals des Kolbens, geschweige denn an die Mündung des Kniestücks gelangte. Die Destillation dauerte so $^1/_2$ bis $^3/_4$ Std.

Von 8 derartigen Versuchen ergaben 6 ein negatives Resultat, 2mal jedoch zeigte das Destillat bakteriophage Wirksamkeit; doch war sie selbst in diesen Fällen minimal; das Destillat hatte nur einen Lysinexponenten von $e_L=1$, während der nach beendetem Kochen geprüfte Kolbeninhalt noch den ursprünglichen Lysinexponenten 8 hatte. Es ist also selbst bei diesen Ausnahmefällen, in denen absichtlich die Möglichkeit des Tröpfchenüberganges in das Destillat nicht mit voller Sicherheit verhindert wurde, nur eine geringe Spur, etwa $^1/_{10000000}$, des Lysins in das Destillat gelangt, ein Ergebnis, das mit den Versuchen mit und ohne Kniestück von Gildemeister u. Herzberg[1]) vollkommen übereinstimmt und sehr deutlich die Wirkung der Tröpfcheninfektion darlegt.

III.

Im Anschluß an diese Versuche sei noch eine Reihe weiterer Untersuchungen angeführt, die zum Zwecke der Nachprüfung der Angaben Seiferts über die Kochbeständigkeit der Lysine unternommen wurden. Die von ihm beschriebene Versuchsanordnung wurde genau innegehalten, wobei peinlich darauf geachtet wurde, daß keine Uebertragung von Lysintröpfchen durch Berührung der Filterkerzen mit den zur Filtration benutzten Saugflaschen usw. erfolgte. Für jede einzelne Filtration wurden frisch sterilisierte Saugflaschen verwendet. Bei 6 Versuchsreihen mit verschiedenen Berkefeld-Liliputkerzen waren jedoch sämtliche Filtrate vollkommen unwirksam.

Durch die geschilderten Versuche konnte daher weder die Flüchtigkeit, noch die Kochbeständigkeit der Lysine nachgewiesen werden.

---

1) a. a. O.

Nachdruck verboten.

Studien über die Ueberempfindlichkeit.

[Aus der Frauenklinik der Universität Halle a. S. (Direktor: Geh. Med.-Rat Prof. Sellheim).]

Von Priv.-Doz. Dr. **Heinz Küstner.**

In diesem Centralblatt Abt. I. Orig. Bd. 86. 1921. H. 2 veröffentlichte ich mit Herrn Prof. Prausnitz zusammen unter dem gleichen Titel Untersuchungen, die ich an mir selber gemacht hatte. Ich litt damals an einer sehr schweren Idiosynkrasie gegen Fischeiweiß, die ich seit dem 6. Lebensjahr bei mir beobachtet hatte. Auf die damaligen Untersuchungen will ich nicht weiter eingehen, möchte mit diesen Zeilen nur gewissermaßen einen Zusatz oder Nachtrag zu dieser Frage liefern. Schon damals konnten wir eine lokale Abstumpfung der Empfindlichkeit an den Körperstellen nachweisen, bei denen die zum Versuch notwendigen, nach Dutzenden zählenden Injektionen der verschiedenen Fischextrakte gemacht worden waren. Diese Unempfindlichkeit hielt einige Wochen an. Die Untersuchungen wurden dann aus äußeren Gründen abgebrochen; ich habe nie wieder in einer ähnlichen Weise Selbstversuche angestellt.

Nun war ich längere Zeit hindurch darauf angewiesen, in Gasthäusern zu essen und konnte beobachten, daß ich seit jetzt ungefähr 2 Jahren nie mehr einen anaphylaktischen Anfall gehabt habe, obwohl mir keinen Augenblick zweifelhaft ist, daß ich sicherlich einmal in einem Gericht Fisch in geringer Menge genossen habe. Bei meiner früheren starken Ueberempfindlichkeit reichten die feinsten Spuren von Fisch aus, um mich krank zu machen. Vor einigen Wochen aß ich in der hiesigen klinischen Verpflegung eine Sauce, in der Hering verarbeitet war, und einige Tage später Königsberger Klops, der zu einem nicht unerheblichen Teil aus Fisch bestand. Beide Male bemerkte ich sofort den mir unangenehmen Fischgeschmack, wunderte mich aber, daß ich trotz dieser beträchtlichen Mengen von Fisch nicht erkrankte und auch nicht die geringste Reaktion in Form von Urticaria oder einer leichten Conjunctivitis bekam.

Um dieser Frage auf den Grund zu gehen, stellte ich mir folgenden Fischextrakt her: 20 g Seefisch wurden in 100 ccm Wasser 5 Min. gekocht, filtriert und das Filtrat 10 Min. gekocht. Dieses Filtrat ist nach dem Gewicht doppelt so stark wie dasjenige, welches bei den damaligen Untersuchungen eine schwere Allgemeinreaktion bei Injektion von 0,1 ccm intrakutan hervorrief. Ich injizierte mir von dieser doppeltstarken Lösung 0,15 ccm intrakutan und bekam erst nach $^1/_2$ Std. — damals traten die Reaktionen nach 10 und 15 Min. auf — eine lokale, 10×12 mm im Durchmesser messende Quaddel mit einer 50×60 mm großen, roten Area. Es trat geringes Jucken an der Stelle der Injektion auf. Nach ungefähr 4 Std. hatte sich an dieser Stelle ein 12×6 cm großes, leicht juckendes, sich etwas heißer an-

fühlendes Oedem ausgebildet. Eine Reaktion an anderen Körperstellen, speziell den empfindlichen Partien der Bauch- und Kopfhaut, bei denen bei den früheren Reaktionen stets zuerst starkes Jucken und die Ausbildung von großen Quaddeln erfolgte, fehlte vollkommen. Ebenso fehlte jegliche Reaktion an den Rachen-, Nasen- und Augenschleimhäuten.

Diese, wie es mir scheint, nicht ganz uninteressante Beobachtung möchte ich als Ergänzung meiner damals mit Herrn Prof. Prausnitz gemeinsam gemachten Untersuchungen bekannt geben. Ich möchte mich, als Spezialist auf einem anderen Gebiete, nicht auf die Frage der Deutung dieses Umschwunges einlassen, möchte nur noch dazu bemerken, daß ich in der Zwischenzeit keine Krankheit durchgemacht habe und auch keine auf die Serumzusammensetzung irgendeinen Einfluß ausübende Kur vorgenommen habe. Als einzige Erklärung für diese Herabsetzung der Ueberempfindlichkeit gegen Fischeiweiß könnte ich mir folgenden Zusammenhang denken: Durch die damaligen zahlreichen Injektionen mit größtenteils leichten Reaktionen ist in gewisser Beziehung eine Umstimmung des Serums in der beschriebenen Weise eingetreten.

Nachdruck verboten.

Ueber die Rolle des Ekto- und Endoplasmas der Bakterien für die Serumbakterizidie und für die Phagozytose.

[Aus der bakteriologisch-hygienischen Abteilung des Städt. Hygienischen Universitäts-Institutes in Frankfurt a. M.]

Von Prof. **H. Braun** und Dr. **R. Nodake.**

Durch die grundlegenden Arbeiten von E. Weil und A. Felix[1]) ist gezeigt worden, daß bei Proteus-Bakterien 2 qualitativ verschiedene Agglutinogene und in den mit ihnen erzeugten Immunseris zweierlei diesen entsprechende Agglutinine nachweisbar sind.

Weil und Felix sprachen vom Doppeltypus der Rezeptoren. Es gelang ihnen, nachzuweisen, daß die Proteus-Bakterien in zweierlei Kolonieformen auftreten, in der mit hauchartigem Saum sich umgebenden schwärmenden H-Form und in der ohne Hauch wachsenden, nichtschwärmenden O-Form, und daß von diesen die erstere 2, die letztere nur 1 Rezeptortypus besitzt. Sachs und Schloßberger[2]) haben dann die wichtige Feststellung gemacht, daß der eine Rezeptortypus der Proteus-Bakterien hitzeempfindlich, der andere hitzebeständig ist. Diese Tatsache gab die methodische Möglichkeit, auf die Anwesenheit der „stabilen" und „labilen" Rezeptoren auch bei solchen Mikroorganismen zu fahnden, bei denen verschiedenartige Kolonieformen nicht auftreten. In der Tat gelang es Weil und Felix[3]), Breinl, Gruschka bei Typhus-, Paratyphus- und anderen Bakterien diesen Doppeltypus der Rezeptoren für Agglutination nachzuweisen.

1) Wien. klin. Woch. Bd. 46. 1918.
2) Arb. a. d. Inst. f. exper. Ther. u. d. Georg Speyer-Haus. 1919.
3) Ztschr. f. Immunitätsf. Orig. Bd. 29. 1920.

Braun und Salomon[1]) zeigten, daß die schwärmenden, zweierlei Agglutinogene besitzenden Proteus-Bakterien in nichtschwärmende, nur 1 Rezeptor besitzende künstlich dadurch übergeführt werden können, daß sie auf einem karbolsäurehaltigen Nährboden gezüchtet werden.

Braun und Schäffer[2]) hatten diese Erscheinung genauer analysiert und festgestellt, daß die serologische Veränderung nicht nur auf karbolhaltigen Nährböden eintritt, sondern auch dann, wenn Bakterien auf nährstoffarmen Medien gezüchtet werden. Sie zeigten weiterhin, daß dieser Verlust bestimmter Agglutinogene der Proteus-Bakterien von einem Verlust des ektoplasmatischen Geißelapparates begleitet ist. Auch für die „natürlichen", von Weil und Felix gezüchteten O-Formen der Proteus-Bakterien konnten sie in Uebereinstimmung mit Jötten[3]) die Geißellosigkeit feststellen. Braun und Schäffer äußerten die Ansicht, daß es sich bei dem Agglutinogen- und Geißelverlust nicht nur um einen Parallelismus handelt, sondern um einen ursächlichen Zusammenhang der beiden Erscheinungen. Daraus mußte gefolgert werden, daß der ektoplasmatische Geißelapparat aus Rezeptoren aufgebaut ist, die von denen des Endoplasmas qualitativ verschieden sind.

Braun[4]) und Feiler[5]) zeigten, daß auch bei Typhus- und Paratyphus B-Bazillen durch Züchtung auf karbolhaltigen oder nährstoffarmen Medien ein Geißelverlust und ein Schwund besonderer Agglutinogene eintritt. Hierher gehören auch die eingehenden Untersuchungen von v. Eisler und Silberstein[6]) in denen unter anderem festgestellt wurde, daß die Typhusbazillen je nach Feuchtigkeit des Nährbodens serologische Differenzen zeigen.

Die Annahme des ursächlichen Zusammenhanges zwischen Geißel- und Agglutinogenverlust schien auf Grund der besprochenen Ergebnisse nicht zwingend zu sein, und es mußte nach neuen Beweisen gesucht werden. Es wurden daher zunächst Versuche an geißellosen Bakterien, und zwar an Colitisbazillen ausgeführt [Braun und Gersbach[7])]. Die Versuche ergaben, daß diese durch Züchtung auf karbolhaltigen oder nährstoffarmen Medien keinerlei Agglutinogene verlieren. Das sprach für unsere Annahme des Zusammenhanges von Agglutinogen- und Geißelverlust. Eine besondere Stütze erfuhr sie durch die Versuche mit dem Bacillus inconstans [Braun und Löwenstein[8])]. Dieses Stuhlbakterium zeichnet sich dadurch aus, daß es auf nährstoffreichen Nährböden sowohl bei 22° wie bei 37° üppig gedeiht, aber bei 22° gezüchtet peritrich begeißelt und beweglich, bei 37° kultiviert wenig oder gar nicht begeißelt und unbeweglich ist. Die beiden Zuchten dieses Mikroorganismus zeichnen sich nun serologisch dadurch voneinander aus, daß die begeißelte zweierlei Agglutinogene, die unbegeißelte nur 1 Art von Rezeptoren besitzt. Wir halten es nun für erwiesen, daß der ektoplasmatische Geißelapparat der peritrich begeißelten Bakterien biochemisch anders gebaut ist als das Endoplasma derselben. Diese Bakterien bilden, wie wir gesehen haben, ihr Zilienkleid nur unter günstigen Umständen aus. Es ist für sie nicht lebensnotwendig.

Welche Rolle spielen nun die gegen das Ekto- und Endoplasma peritrich begeißelter Bakterien gerichteten Antikörper bei Immunitätsvorgängen? Wir müssen daran denken, daß die Ektoplasmaentwicklung der Krankheitserreger während des Infektions-

1) Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 81 u. 82.
2) Berl. klin. Woch. 1919; Ztschr. f. Hyg. Bd. 89.
3) Berl. klin. Woch. 1919.
4) Ztschr. f. allg. Physiol. Bd. 19. 1920.
5) Ztschr. f. Immunitätsf. Bd. 29. 1920.
6) Ztschr. f. Hyg. u. Inf. 1923.
7) Ztschr. f. Immunitätsf. Orig. Bd. 33. 1921.
8) Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 91. 1923.

prozesses eine verschiedene sein kann. Die Lebensbedingungen der Erreger im infizierten Organismus sind nicht immer besonders günstige. Die Abwehrkräfte des Körpers wirken schädigend auf den Eindringling, wodurch Bedingungen eintreten, die der Karbolwirkung und Unterernährung gleichen. Weiterhin muß beachtet werden, daß die Fähigkeit, Ektoplasma auszubilden, den verschiedenen Stämmen derselben Art in ungleichem Maße eigen ist. Gibt es doch z. B. Proteusbazillen, die auch unter den günstigten Ernährungsbedingungen keinen ektoplasmatischen Geißelapparat ausbilden. Es liegt nun die Annahme nahe, daß die Oberflächenbeschaffenheit der Bakterien für die Immunitätsvorgänge von besonderer Wichtigkeit ist, da die Oberfläche doch die erste Angriffsfläche darstellt.

Wir stellten zunächst Versuche über die Rolle des Ekto- und Endoplasmas solcher Bakterien für die Serumbakterizidie an.

Als Bakterien wählten wir den Fleckfieber-Proteus-Bazillus x_2 von Weil und Felix. Es stand uns sowohl eine schwärmende geißeltragende H-Form, wie auch eine natürliche geißellose O-Form dieses Keimes zur Verfügung. Die Immunsera gewannen wir von Kaninchen, die mit durch Aether abgetöteten Aufschwemmungen von Agarkulturen der Hx_2- oder Ox_2-Bakterien vorbehandelt waren. Bei der Prüfung auf Bakterizidie wählten wir den Reagenzglasversuch, weil er ein übersichtliches und quantitativ exaktes Arbeiten gestattet. Die Methodik lehnte sich an die von M. Neißer und Wechsberg beschriebene. Als Komplement wurde frisches Meerschweinchenserum benutzt.

Wir wollen uns in dieser Veröffentlichung mit der Mitteilung der Ergebnisse und der daraus sich ergebenden Schlußfolgerungen begnügen. Die ausführliche Mitteilung der Experimente wird an anderer Stelle erfolgen.

Um uns im folgenden kürzer ausdrücken zu können, bezeichnen wir als „Vollbakterien" solche, bei denen Ekto- und Endoplasma voll entwickelt ist, als „nackte" Bakterien solche, denen der ektoplasmatische Geißelapparat fehlt. „Vollimmunserum" nennen wir ein solches, welches sowohl gegen Ekto- wie Endoplasma gerichtete Antikörper enthält, „ektoplasmatische" und „endoplasmatische" Antikörper solche, die gegen Ekto- resp. Endoplasma gerichtet sind.

Die Resultate der bakteriziden Reagenzglasversuche mit Vollimmunserum sind folgende: Es ist gegen beide Bakterienformen, die nackten und die Vollbakterien, wirksam. Es verhält sich aber ihnen gegenüber nicht immer gleich. Der Titer kann verschieden sein. Sehr häufig waren in unseren Versuchen zur Abtötung der nackten Bakterien geringere Vollimmunserummengen nötig als zur Vernichtung der Vollbakterien. Hervorheben müssen wir hierbei, daß es sich bei den von uns benutzten nackten Bakterien nicht um durch Hunger oder durch Desinfektionsmittel geschädigte Mikroorganismen handelte, sondern um natürliche O-Formen, die auch unter günstigsten Ernährungsbedingungen den ektoplasmatischen Geißelapparat nicht ausbilden. Weiterhin ist uns aufgefallen, daß die sog. Komplementablenkung (M. Neißer-Wechsbergsches Phänomen) bei nackten Bakterien sehr viel häufiger zu beobachten war als bei Vollbakterien.

Wie verhalten sich nun Immunsera, die mit O-Formen hergestellt sind und demnach nur gegen Endoplasma gerichtet Antikörper enthalten? Die Versuche zeigten, daß solche Immunsera nackte Bakterien bis zu starken Verdünnungen bakterizid beeinflussen, dagegen auf Vollbakterien schlechter, manchmal gar nicht wirken.

Das Ektoplasma der Vollbakterien wirkt also schützend gegen die bakterizide Wirkung der endoplasmatischen Antikörper.

Wie steht es nun mit dem Sera, die nur ektoplasmatische Antikörper enthalten?

Wir haben zu diesen Versuchen zweierlei Immunsera benutzt: einmal mit nackten Ox_2-Bakterien erschöpfte Hx_2-Vollimmunsera, aus denen also die endoplasmatischen Antikörper entfernt waren, und dann Immunsera des Fleckfieber-x_{19}-Bazillus, der bekanntlich nur gemeinsame ektoplasmatische Agglutinogene mit den bei unseren Versuchen benutzten x_2-Bazillen besitzt. Auch diese Hx_{19}-Immunsera haben wir der endoplasmatischen Antikörper beraubt, indem wir sie mit nackten Ox_{19}-Bazillen erschöpften.

Sera, die nur ektoplasmatische Körper besitzen, wirken auf nackte Bakterien nicht bakterizid, wohl aber auf Vollbakterien. Unerschöpfte Vollimmunsera sind, wie vergleichende Versuche zeigten, gegenüber Vollbakterien in stärkeren Verdünnungen wirksam als solche, die der endoplasmatischen Antikörper beraubt sind.

Der Vollständigkeit halber sei erwähnt, daß wir unsere Versuche durch Verwendung von normalen Kaninchensera, von Vollimmunsera, die mit Vollbakterien erschöpft waren, kontrollierten, und daß diese im Sinne der oben angegebenen Ergebnisse ausfielen.

Aus den mitgeteilten Feststellungen geht folgendes hervor:

1) Die gegen das Ektoplasma der peritrich begeißelten Proteus-Bakterien gerichteten bakteriziden Antikörper sind qualitativ verschieden von den gegen das Endoplasma wirksamen. Auch in bezug auf Bakterizidie ist also Ekto- und Endoplasma dieser Bakterien serologisch different.

2) Das Ektoplasma schützt, wenn im Immunserum die ektoplasmatischen Antikörper fehlen, die Vollbakterien gegenüber der Wirksamkeit der endoplasmatischen Antikörper.

3) Die gegen das Ektoplasma gerichteten Antikörper genügen bei Vollbakterien allein zur Vermittlung der bakteriziden Komplementwirkung.

4) Die Wirksamkeit von Immunsera, die gleichzeitig gegen Ekto- und Endoplasma gerichtete Antikörper enthalten, ist gegenüber Vollbakterien eine stärkere als solcher Immunsera, die nur ektoplasmatische Antikörper enthalten.

5) Auf nackte Bakterien wirken nur die endoplasmatischen Antikörper. Die Wirksamkeit einer Immunserums, das ekto- und endoplasmatische Antikörper enthält, kann gegenüber nackten und Vollbakterien eine graduell verschiedene sein. Sie ist eben unter anderem auch abhängig vom Gehalt an den beiderlei Antikörpern. Es müßte deshalb der Gehalt der Sera an den beiden Antikörpern getrennt geprüft werden, da das eine Serum mehr endoplasmatische, das andere mehr ektoplasmatische Antikörper enthalten kann.

6) Für die Herstellung der bakteriziden Sera gegenüber peritrich begeißelten Bakterien und für die Verwendung von Impfstoffen gegen solche Mikroorganismen, wie Proteus-Bazillen, Typhus-, Paratyphus- und Coli-Bakterien, müßten Stämme verwendet werden, deren Ektoplasma gut entwickelt ist. Die Zuchtbedingungen (Nährstoffgehalt, Feuchtigkeit, Temperatur) und der verwendete Stamm sind sorgfältig auszuwählen.

Friedberger und Moreschi[1]) haben bereits Unterschiede im Rezeptorenapparat bei verschiedenen Typhusrassen aufgedeckt und ihre

1) Berl. klin. Woch. 1905.

Bedeutung für die Bakterizidie erwiesen. Nach Friedberger[1]) ist neben der Titerhöhe auch eine Titerbreite für die Bewertung der Typhusimmunität in Betracht zu ziehen. Wir glauben, daß die Auswahl der Stämme für die Schutzimpfung nach Pfeiffer und Kolle in der von uns angedeuteten Richtung erfolgen sollte, da wir wissen, wie quantitativ verschieden der ektoplasmatische Geißelapparat bei Typhusbazillen entwickelt ist. Weiterhin muß beachtet werden, daß die ektoplasmatischen Antigene thermolabil sind. Deshalb werden Impfstoffe, die aus bei höheren Temperaturen abgetöteten Bakterien hergestellt sind, weniger brauchbar sein als solche, die mit schonenden, die ektoplasmatischen Antigene nicht schädigenden Methoden bereitet sind. Wichtig wäre es, zu wissen, wie es sich mit der Entwicklung des Ektoplasmas peritrich begeißelter Bakterien während des Infektionsprozesses im Körper des Menschen verhält. Es ist, wie oben bereits erwähnt wurde, durchaus möglich, daß die Entwicklung des Ektoplasmas z. B. bei Typhusbazillen in der Blutbahn und in den Organen, bei Coli- und Proteus-Bazillen bei Cystitis im Urin beeinträchtigt ist. Für die Herstellung von Impfstoffen für prophylaktische Zwecke und für die Bakteriotherapie wäre die Kenntnis solcher Veränderungen von Bedeutung. Darauf haben wir bereits früher[2]) hingewiesen. Es möge hier erinnert werden an die jüngsten Untersuchungen von Neufeld[3]) und seinen Mitarbeitern, die zeigten, daß Streptokokken und Pneumokokken beim Durchtritt durch die Schleimhäute ihre Virulenz und ihre Antigene ändern können.

Es ist selbstverständlich, daß das hier besprochene Verhalten der peritrich begeißelten Bakterien bei der Serumbakterizidie nicht für alle Bakterien Geltung haben wird. Im Gegenteil! Es ist auf Grund von Erfahrungen bei der Agglutination anzunehmen, daß es für viele, z. B. eingeißelige und unbegeißelte Bakterienarten, nicht zutreffen wird (Cholera-, Ruhrbazillen usw.).

Es ist nun von Interesse, zu prüfen, ob die serologische Differenz des Ektoplasmas und Endoplasmas peritrich begeißelter Bakterien außer für Bakterizidie auch bei anderen Immunitätsvorgängen eine Rolle spielt. In dieser Hinsicht ist die Phagozytosebeförderung der Immunsera, die bakteriotrope Wirkung (Neufeld und Rimpau) von besonderem Interesse.

Es möge gestattet sein, auf entsprechende von uns ausgeführte Versuche kurz einzugehen. Wir prüften, wie nackte und Vollbakterien der Fleckfieberproteusstämme x_2 und x_{19} bei Anwesenheit von Kaninchenimmunsera von Meerschweinchenleukozyten phagozytiert werden. Die Ergebnisse sind folgende: Ein Vollimmunserum des x_2-Bazillus wirkt stark phagozytosebefördernd auf nackte und Vollbakterien des x_2-Bazillus, auf Vollbakterien des x_{19}-Stammes wirkt es sehr langsam und nicht stark, auf nackte x_{19}-Bazillen gar nicht. Das Analoge gilt mutatis mutandis von einem Vollimmunserum des x_{19}-Bazillus.

Ein Immunserum, das nur gegen das Endoplasma des x_2-Bazillus gerichtete Antikörper enthält, wirkt stark phagozytosebefördernd sowohl auf nackte wie auf Vollbakterien des x_2-Stammes, nicht dagegen auf die beiderlei Formen des x_{19}-Bazillus. Analog verhält sich das

1) Verhandl. d. Dtsch. Kolonialkongresses. 1905.
2) Ztschr. f. Immunitätsf. Orig. Bd. 33. 1921; Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 91. 1923.
3) Dtsch. med. Woch. Bd. 50. 1924. H. 1.

mit nackten x_{19}-Bazillen hergestellte Immunserum. Es wirkt phagozytosebefördernd auf beide Formen des homologen Stammes, nicht auf die des heterologen.

Für die bakteriotrope Immunserumwirkung genügt es demnach, daß am Endoplasma allein Antikörper haften; die Oberfläche des Bakteriums muß nicht mit Antikörpern beladen sein, damit eine Phagozytosebeförderung zutage tritt. Wir hatten sogar aus unseren Versuchen die Ueberzeugung gewonnen, daß nicht die Ektoplasma-, sondern die Endoplasmabeladung mit Antikörpern für die Phagozytose von entscheidender Bedeutung ist. Die für die Phagozytose nötige Veränderung des peritrich begeißelten Bakteriums tritt besonders dann ein, wenn der lebenswichtige Teil des Bakterienprotoplasmas, nämlich sein Endoplasma, von Antikörpern besetzt ist. Ohne Ektoplasma ist, wie wir wissen, das Bakterium völlig funktionsuntüchtig. Welche Lebensfunktionen nun durch die Endoplasmabeladung ausgeschaltet werden, welcher Art die Antikörperwirkung ist, die die Phagozytose ermöglicht, entzieht sich bis jetzt unserer Kenntnis.

Nachdruck verboten.

Nachweis und Austitrierung antitoxischer Sera (insbesondere des Tetanusantitoxins) im Reagenzglas.

[Aus dem Institut für experimentelle Therapie „Emil von Behring" zu Marburg (Lahn) (Direktor: Prof. Dold).]

Von Dr. **W. Scholz.**

Die 1. Mitteilung von G. Ramon (1), daß es ihm gelungen sei, mittels einer äußerst einfachen Methodik antitoxische Sera (insbesondere das Diphtherieantitoxin) im Reagenzglas nachzuweisen und auszutitrieren, ist in Fachkreisen zunächst auf Zweifel gestoßen. War es doch bis dahin trotz mehrfach unternommener Versuche niemals einwandfrei geglückt, die Wirkungsweise der antitoxischen Sera in vitro zur Darstellung zu bringen. [Vgl. W. Georgi, Ueber eine ausflockende Wirkung des Diphtherieserums (2).] Bei den bald nach Bekanntwerden der Ramonschen Untersuchungen angestellten Nachprüfungen durch Renaux (3), Schmidt (4) und Scholz (5 u. 6) hat es sich jedoch gezeigt, daß die von Ramon beschriebene Ausflockungsmethode für die Auswertung von Diphtherieserum im Prinzip durchaus brauchbar ist, und daß die mit dieser Methode erhaltenen Prüfungsergebnisse mit den im Tierversuch ermittelten Antitoxinwerten gut übereinstimmen.

Nach der Vorschrift von Ramon geht man, um den Antitoxingehalt eines unbekannten Diphtherieserums zu ermitteln, folgendermaßen vor. Man füllt eine Reihe von Reagenzgläsern mit je 20 ccm eines unverdünnten Diphtherietoxins und bringt fallende Mengen von dem unverdünnten Serum in je eins der Giftröhrchen. Bei Zimmertemperatur oder besser bei 37° C tritt, wenn es sich um Diphtherieantitoxin handelt, nach einigen Stunden in einem oder in mehreren Röhrchen Trübung und später eine makroskopisch gut sichtbare Flockung auf. Ramon

hat dann nachgewiesen, daß das Flockenmaterial, das sich nach längerem Stehen im Reagenzglas zu Boden setzt, den Komplex Toxin—Antitoxin enthält. Man kann also annehmen, daß die Flockung ein makroskopisch sichtbares Zeichen für die eingetretene Neutralisierung des Toxins durch das Antitoxin darstellt. Für diese Annahme spricht die Tatsache, daß die Serum*menge*, die zur Neutralisation eines bestimmten Quantums Toxin bzw. zur Erzeugung einer Flockung erforderlich ist, sich dem antitoxischen *Wert* des Serums umgekehrt proportional zeigt. So entsprechen z. B. auf 20 ccm von Ramons Toxin berechnet

4	ccm	Serum	einem	Antitoxingehalt	von	50	A.E.	in 1	ccm
2	„	„	„	„	„	100	„	„ 1	„
1	„	„	„	„	„	200	„	„ 1	„
0,5	„	„	„	„	„	400	„	„ 1	„
0,25	„	„	„	„	„	800	„	„ 1	„

Man kann nun beispielsweise 5 Reagenzgläser mit je 20 ccm Toxin füllen und die hier notierten Mengen von dem unbekannten Serum in je ein Röhrchen zusetzen. Wichtig ist es dann, dasjenige Röhrchen zu bestimmen, in dem eine Flockung *zuerst* auftritt, denn je genauer das für die Flockung optimale Verhältnis von $\frac{\text{Toxin}}{\text{Antitoxin}}$ in einer Mischung vorhanden ist, desto *früher* tritt die Flockung ein (précipité indicateur), während jeder Ueberschuß von Toxin oder Antitoxin dieselbe verzögert. Wenn also im obigen Beispiel das 3. Röhrchen zuerst Flockung zeigt, so ist das fragliche Serum 200fach.

Ramon hat dann in weiteren Mitteilungen (7) seine ersten Ausführungen ergänzt und auch ein Schema veröffentlicht (8), mit dem man die Auswertung des Diphtherietoxins nach demselben Prinzip ausführen kann, wie die Titrierung des Antitoxins. Aus dieser letzten Mitteilung geht nun hervor, daß *Ramon* als Optimum für den Eintritt einer Ausflockung das *gleiche* Zahlenverhältnis von $\frac{\text{Toxin-einheiten}}{\text{Antitoxin-einheiten}}$ annimmt, das ich im Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 91 angegeben habe. Ich konnte damals feststellen, daß das Flockungsoptimum bei einem Mischungsverhältnis von ca. $\frac{12\text{ G.E.}}{23{,}3\text{ A.E.}}$ liegt, das heißt, daß auf 1 Gifteinheit fast genau 2 Antitoxineinheiten kommen. *Ramon* hat auf dieses einfache Zahlenverhältnis bisher nicht aufmerksam gemacht, obwohl es in allen seinen Untersuchungen zur Anwendung gekommen sein dürfte. Ich möchte jedoch hier auf die bemerkenswerte und interessante Tatsache hinweisen, daß man, *um ein Toxin in vitro zur Ausflockung zu bringen, gerade doppelt soviel Antitoxin benötigte, wie zur Giftneutralisierung im Meerschweinchenversuch* erforderlich ist. Man kann sich diese Tatsache wohl folgendermaßen zwanglos erklären: Die toxische Energie, die gerade dazu verbraucht wird, um beispielsweise 100 Meerschweinchen von 250 g zu töten, das ist *eine* Gifteinheit, wird *in vivo* durch *eine* Antitoxineinheit neutralisert. Zu ihrer „absoluten" Neutralisierung *in vitro* erfordert jedoch eine Gifteinheit eine zweite Antitoxineinheit. Die Rechnung stimmt aber, wenn man bedenkt, daß diese zweite Antitoxineinheit identisch ist mit der „antitoxischen" Energie, die durch die Substanz von 100 lebenden Meerschweinchen repräsentiert wird[1]).

1) Andererseits könnte man, ohne die obige Erklärung ablehnen zu müssen, sich vorstellen, daß das Toxinmolekül zwei freie chemische Affinitäten besitzt und daß zur Neutralisierung in vivo die Absättigung einer freien Affinität ausreicht, während zur Ausflockung in vitro die Absättigung beider Affinitäten erforderlich ist.

Diese bei den Ausflockungsversuchen mit Diphtherieserum gewonnene Erkenntnis hat bei den im folgenden näher zu beschreibenden Untersuchungen über die Ausflockbarkeit des Tetanustoxins durch sein Antitoxin Anhaltspunkte für die richtige Beurteilung mancher Versuchsergebnisse geboten. Es lag ja von vornherein nahe, das bei der Prüfung von Diphtherieserum erfolgreiche Ausflockungsverfahren nun auch für die Auswertung anderer antitoxischer Sera zu verwenden. Orientierende Versuche ergaben bald, daß sowohl beim antitoxischen Dysenterieserum wie auch beim Tetanusserum die Einwirkung des Antitoxins auf das spezifische homologe Toxin im Reagenzglas optisch wahrnehmbare Veränderungen (Trübungen) hervorzurufen imstande ist, während solche Trübungen in heterologen Gemischen, z. B. Tetanustoxin + Diphtherieantitoxin, nicht beobachtet werden. Die Frage, inwieweit nun diese Reaktion für eine Austitrierung des Tetanusantitoxins praktisch verwendbar ist, habe ich unter Benutzung der verschiedensten Tetanustoxine und Antisera aus dem reichhaltigen Material der Behrings-Werke untersucht.

Auf Grund der bei der Auswertung von Diphtherieserum gesammelten Erfahrungen habe ich fast nur mit direkten Mischungen von Toxinen und Antitoxinen bzw. mit Verdünnungen mittels 0,85proz. Kochsalzlösung gearbeitet. Mit der von Nicolle, Césari und Debains (9) angegebenen Methode zur Auswertung von Tetanusantitoxin im Reagenzglas konnte ich, ebenso wie mit Ueberschichtungsversuchen (unter Benutzung spezifisch schwerer Verdünnungsflüssigkeiten), einwandfreie Resultate nicht erhalten, allerdings ohne sämtliche Erklärungsmöglichkeiten für das Mißlingen der Versuche untersucht zu haben. Was des weiteren die Methodik meiner Untersuchungen anbetrifft, so kann ich mich fast ganz auf allgemeine Angaben beschränken, da wesentliche Abweichungen von der bei der Auswertung des Diphtherieserums beschriebenen Technik nicht vorliegen. Vorversuche hatten schon gezeigt, daß dieselben Versuchsbedingungen, wie Alter des Serums, erhöhte Temperatur usw. den Ablauf der Reaktion in derselben Weise beeinflussen wie beim Diphtherieserum. Außerdem ist bei Versuchen mit Tetanustoxin mehr wie beim Diphtherietoxin auf steriles Arbeiten zu achten, da Trübungen durch bakterielle Verunreinigungen leicht zu Mißdeutungen führen können, zumal wegen der Notwendigkeit, die Versuchsröhrchen längere Zeit bei Bruttemperatur zu halten. Ich habe deshalb bei meinen Proben stets sowohl zum Toxin wie auch zum Antitoxin und zur Kochsalzlösung 0,5proz. Karbolsäure zugesetzt. Um für die Austitrierung des Tetanusserums nun eine ähnliche, praktisch brauchbare Methode wie beim Diphtherieserum zu bekommen, war nach den früher gesammelten Erfahrungen zunächst das Mischungsverhältnis von Toxin und Antitoxin zu finden, das am besten makroskopisch sichtbare Veränderungen innerhalb einer begrenzten Zeit erkennen ließ. Zu diesem Zweck habe ich in vielen Einzelversuchen stark toxische und schwach toxische Tetanusbouillongifte (durch Seitz-Filter filtriert) sowie starke und schwache Lösungen mit Ammoniumsulfat gefällter Toxine als „Test"-Gifte benutzt. Weiter habe ich die Giftmengen in den einzelnen Versuchsröhrchen variiert von 2 ccm 10fach verdünnten Bouillonfiltrats bis zu 20 ccm einer konzentrierten Toxinlösung. Die untersuchten Serumproben wiesen im Tierversuch Werte von 8 AE. bis zu $^1/_{10}$ AE. in 1 ccm auf, und

die Zusatzmengen variierten von 4 ccm unverdünntem bis zu 0,5 ccm 1:10000 verdünntem Serum.

Das Resultat aller dieser Versuche war kurz folgendes: Bei einem gewissen Mischungsverhältnis von $\frac{\text{Toxin}}{\text{Antitoxin}}$ tritt bei Verwendung eines geeigneten Toxins ebenso wie bei Mischungen von Diphtherietoxin und Antitoxin im Reagenzglas in kürzerer oder längerer Zeit eine Trübung auf, die in eine makroskopisch sichtbare Ausflockung übergeht. Trübung und Flockung treten während einer bestimmten Beobachtungszeit nur in einer begrenzten Zone ein, d. h., Mischungen, in denen der Gehalt an Toxineinheiten über eine gewisse Grenze hinaus größer oder kleiner ist als der Gehalt an Antitoxineinheiten, lassen eine Reaktion nicht erkennen, oder mit anderen Worten: bei der Mischung von Tetanustoxin und Antitoxin hat sich im Reagenzglas ein Flockungsoptimum nachweisen lassen, welches ein Analogon zu dem von Ramon beim Diphtherietoxin beschriebenen Flockungsphänomen darstellt. Damit ist die Möglichkeit gegeben, Tetanusantitoxin, das bisher einwandfrei nur im Tierversuch nachgewiesen werden konnte, nunmehr im Reagenzglas sicher nachzuweisen. Ein Beispiel für einen solchen Nachweis gibt die folgende Versuchsanordnung wieder:

In 5 Reagenzgläser füllt man je 10 ccm einer klar filtrierten Tetanusbouillon, die nach 8tägigem Wachstum bei 37° C in 1 ccm ca. 600000 + Ms enthält. Hierauf werden in die einzelnen Röhrchen fallende Mengen eines 4fachen Tetanusserums gegeben, und zwar 1,0 ccm; 0,5 ccm; 0,25 ccm; 0,1 ccm und 0,05 ccm. (Das Volumen der einzelnen Serummengen wird mittels Karbolkochsalzlösung auf je 1,0 ccm gebracht.) Nach etwa 12—16stünd. Aufenthalt im Brutschrank bemerkt man in einigen Röhrchen homogene, leicht opaleszierende Trübungen, und nach etwa 16—20 Std. zeigt das eine oder das andere Röhrchen eine makroskopisch erkennbare Ausflockung. (NB.: Toxin und Serum müssen möglichst frisch sein, höchstens 2 bis 3 Wochen alt, da bei älteren Reagentien die Reaktion sich bedeutend verzögert.)

So leicht nun der Nachweis gelingt, so groß sind die Schwierigkeiten, die der Austitrierung von Tetanusantitoxin im Reagenzglas im Wege stehen. Wenn die Austitrierung des Diphtherieserums im wesentlichen darauf beruht, daß der geringste Ueberschuß von Toxin oder Antitoxin über das optimale Mischungsverhältnis hinaus die Ausflockung meßbar verzögert, so ließ sich dieses Verhalten bei Tetanus Toxin-Antitoxinmischungen nicht mit genügender Präzision erweisen. Erhebliche Differenzen im Antitoxingehalt zweier Sera lassen sich wohl nachweisen, jedoch konnte eine Genauigkeit der Austitrierung, die mit dem Tierversuch konkurrieren könnte, trotz zahlreicher Versuche im Reagenzglas nicht erreicht werden. So können beispielsweise die Versuchsröhrchen einer Reihe, die fallende Serumwerte enthalten, nicht mittels der „Indikationsflockung" differenziert werden, weil sie ohne meßbaren Zeitunterschied flocken, auch wenn die Serumwerte Differenzen aufweisen, die im Tierversuch ohne Schwierigkeit meßbar sind. Aus diesem Grunde ist es bisher im besten Falle gelungen, Differenzen von 3—4 Antitoxineinheiten im Reagenzglas festzustellen, während im Tierversuch ja Differenzen von $^1/_{100}$ Antitoxineinheit absolut genau nachgewiesen werden kann. Unter diesen Um-

ständen kommt natürlich eine Austitrierung des Tetanusantitoxins mittels der Flockungsreaktion für praktische Zwecke vorläufig nicht in Frage.

Zusammenfassung.

Auf Grund der bei der Auswertung von Diphtherieserum mittels des Ramonschen Flockungsverfahrens erhaltenen günstigen Resultate wurde versucht, auch für die Austitrierung des Tetanusserums in vitro ein praktisch brauchbares Verfahren zu bekommen. Bei Verwendung der verschiedensten Tetanustoxine und Antisera hat sich mittels einer ähnlichen Technik wie beim Diphtherieserum für ein gewisses Mischungsverhältnis von $\frac{\text{Tetanustoxin}}{\text{Tetanusantitoxin}}$ im Reagenzglas ein Trübungs- und Flockungsoptimum nachweisen lassen, welches ein Analogon zu dem von Ramon beim Diphtherietoxin beschriebenen Flockungsphänomen darstellt.

Damit ist die Möglichkeit gegeben, Tetanusantitoxin, das bisher nur im Tierversuch nachgewiesen werden konnte, nunmehr im Reagenzglas nachzuweisen.

Eine Austitrierung des Tetanusantitoxins in vitro für praktische Zwecke kommt jedoch vorläufig nicht in Frage. Der Hauptgrund liegt darin, daß die Genauigkeit der im Reagenzglasversuch erhaltenen Resultate weit hinter der im Tierversuch erreichbaren Genauigkeit zurückbleibt.

Literaturverzeichnis.

1) Ramon, Compt. Rend. Soc. Biol. 1922. p. 711. — 2) Georgi, W., Med. Klin. 1920. Nr. 41. — 3) Renaux, E., Compt. Rend. Soc. Biol. 9. Juin 1923. — 4) Schmidt, S., Ibid. T. 88. No. 2. — 5) Scholz, W., Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 91. H. 1. — 6) Ders., Dtsch. med. Woch. 1923. No. 50. — 7) Ramon, G., Compt. Rend. Soc. Biol. T. 88. No. 3. — 8) Ders., Ibid. 1924. No. 1. — 9) Nicolle, Cesari et Debains, Ann. de l'Inst. Past. 1922. p. 596.

Nachdruck verboten.

Erfahrungen mit dem Trockenkomplement „Pharmagans".

[Aus dem Hygiene-Institut der Universität Greifswald (Stellvertr. Direktor: Professor Dr. Carl Prausnitz).]

Von Dr. **Friedrich Schilf**, Assistent am Institut.

Die geringe Haltbarkeit des frischen Meerschweinchenkomplements und der schwankende Gehalt des Meerschweinchenblutes an diesem haben mehrfach zu Versuchen geführt, das frische Komplement haltbar zu machen. Dadurch würde man einerseits Material und Tiere sparen können, ein Gesichtspunkt, der heute mehr denn je zu berücksichtigen

ist, andererseits würde, wenn es gelingen sollte, den Komplementgehalt für längere Zeit konstant zu erhalten, jederzeit ein gleich wirksames Komplement zur Verfügung stehen, womit gleichzeitig die Möglichkeit einer Standardisierung der Wassermann-Reaktion und anderer Komplementbindungsreaktionen gegeben wäre.

Man hat die Konservierung versucht durch Kälteeinwirkung in verschiedener Weise (Morgenroth; Browning u. Mackie; Ito), durch Zusatz von Chemikalien, wie Natriumchlorid, Natriumacetat, Magnesiumsulfat (Friedberger; Rhamy; Dold; Hammerschmidt; Scimone; Grigorowitsch), ferner durch Trocknung nach den verschiedensten Verfahren (Friedberger; Massol u. Grysez; Massol u. Nowaczynski; Austin; Sivori; Dean). Beachtenswert sind vor allem die Konservierungsversuche mit Natriumchlorid und ebenso die Trocknungsversuche von Friedberger, der besonders mit dieser letzteren Methode noch nach 11 Tagen wenigstens die Hälfte des ursprünglichen Komplementgehaltes des frischen Serums feststellen konnte. Auch einfaches Einfrierenlassen (Browning und Mackie) und Gefrieren bei der Temperatur der flüssigen Luft (Ito) haben einigermaßen gute Resultate ergeben. Allen genannten Verfahren haften aber gewisse Mängel an, und sie sind daher teilweise schon von den Autoren selbst als praktisch nicht brauchbar bezeichnet worden. In der Praxis ist bisher jedenfalls keins von ihnen zu nennenswerter Bedeutung gelangt.

In neuerer Zeit wird nun nach einem besonderen Verfahren von W. Straub und Gaede aus frischem Meerschweinchenserum durch Trocknung ein Komplement hergestellt, das sich durch lange Haltbarkeit und Titerbeständigkeit auszeichnen soll. Das Herstellungsverfahren, über das keine genauen Angaben veröffentlicht sind, dürfte im wesentlichen auf der großen Geschwindigkeit der Serumtrocknung beruhen. Das Endprodukt ist ein feines, gelblich-rötliches Pulver, das sich nach Angabe der Hersteller leicht und schnell in der nötigen Menge destill. Wassers (der 9fachen) lösen und sofort gebrauchsfähig sein soll.

Wir haben im Untersuchungsamt unseres Instituts eine Reihe von Versuchen mit diesem, nach dem Verfahren von Straub und Gaede hergestellten Trockenkomplement angestellt, von dem uns vier Proben von der Firma Gans bereitwillig zur Verfügung gestellt wurden. Es wurden dabei gleichlaufend mit den regelmäßigen Wassermann-Untersuchungen, zu denen bei uns gewöhnlich ein Gemisch frischen Meerschweinchenkomplements von 5—6 Tieren verwandt wird, jedesmal ein hämolytischer Vorversuch und ein Hauptversuch mit je 2 Wassermann-positiven und 2 Wassermann-negativen Seren angesetzt.

1. Löslichkeit.

Die Auflösung des Trockenkomplements wurde von uns anfangs in der vorgeschriebenen Weise vorgenommen. Dabei zeigte sich, daß durch das einfache Aufstreuen des Pulvers auf dest. Wasser die Lösung recht langsam und unvollständig erfolgte. Die Flüssigkeit zeigte, ähnlich frischem Serum, eine dickflüssige Beschaffenheit und gelbliche Farbe; dabei war sie aber durch deutlich sichtbare Flöckchen mehr oder weniger stark getrübt. Nach längerem Stehen (etwa 2 Std.) bei Zimmertemperatur machte die Lösung keine weiteren Fortschritte, die Trübung schien vielmehr durch vermehrte Flockenbildung zuzunehmen. Ob hierbei eine nachträgliche Ausflockung erfolgte, oder ob die Flocken aus spät sich lösenden, zunächst quellenden Trockenserumkörnchen bestanden, sei dahingestellt. Auch in den zur Anstellung der Wassermann-Reaktion hergestellten Verdünnungen

dieser Lösung machte sich die Flockenbildung bemerkbar und war bei der Ablesung der Hämolyse mehr oder weniger störend. Wir erhielten dagegen meistens eine bessere Lösung durch Einstreuen des Serumpulvers in die 9fache Menge 0,1proz. NaCl-Lösung. Verreibung mit dem Glasstab verbesserte die Lösung nicht, sie führte im Gegenteil zu vermehrter Flockenbildung. Nach Verlauf von 10 Min. war meist die Lösung erfolgt. Die Flüssigkeit war dann nach Aussehen und Konsistenz frischem Serum ähnlich, jedoch behielt sie, auch in den Fällen, wo gute Lösung des Pulvers erfolgt war, stets noch eine feine Trübung. In der Mehrzahl der Versuche gelang es uns so, ein zur Anstellung des hämolytischen Versuches geeignetes Komplement zu bereiten, dessen Verdünnungen eine genügend klare Beschaffenheit besaßen. Ließ man jedoch derartig aufgelöstes Trockenkomplement oder die daraus hergestellten Verdünnungen längere Zeit (etwa 2 Std.) bei Zimmertemperatur stehen, so stellte sich auch hier eine zunehmende Trübung und Flockenbildung ein. Ferner ist zu bemerken, daß die Auflösung des Trockenkomplements auch bei Verwendung von 0,1proz. NaCl-Lösung nicht in allen Fällen glatt erfolgte. Besonders in einem Falle (Versuch vom 25. 4. 1924) war die Lösung nur in geringem Maße möglich. In diesen Lösungsschwierigkeiten des Trockenserums besteht daher zweifellos ein gewisser technischer Mangel des Verfahrens, der sich hoffentlich wird überwinden lassen[1]).

2. Hämolytischer Vorversuch.

Tabelle I zeigt einen Vergleich zwischen der Wirksamkeit des Trockenkomplements und des frischen Komplements im hämolytischen Vorversuch. Wie daraus ersichtlich, wirkt der Ambozeptor in beiden Fällen ungefähr gleich stark; die Zahlen bezeichnen die kleinste lösende Dosis des Ambozeptors nach 30 Min. langem Aufenthalt im Wasserbad von 37°. Nur in wenigen Fällen war die Wirksamkeit des Ambozeptors bei Verwendung des Trockenkomplements in geringem Maße vermindert, und es bestand nur insofern ein Unterschied zwischen den beiden Komplementreihen, als die innerhalb von 2 Std. erfolgte Nachlösung beim Trockenkomplement meist weniger weit ging als beim frischen Komplement. (Siehe Tabelle I S. 441.)

3. Wassermann-Hauptversuch.

Der Hauptversuch wurde, wie bereits erwähnt, mit je zwei Wassermann-positiven und je 2 Wassermann-negativen Seren je 1mal mit frischem und mit Trockenkomplement an 9 verschiedenen Tagen angestellt, also im ganzen mit 18 syphilitischen und 18 nichtsyphilitischen Seren. Das Ergebnis zeigt Tabelle II. Es sind hier nur die Resultate mit dem Trockenkomplement wiedergegeben, da der Versuch mit frischem Komplement in jedem Falle völlig einwandfrei verlief, d. h. sämtliche Wassermann-positiven Seren zeigten mit allen 3 Extrakten vollständige Hemmung ohne Nachlösung, sämtliche

1) Bei Versuchen mit einer nachträglich übersandten Probe der Firma Gans, bei der das Herstellungsverfahren anscheinend noch vervollkommnet wurde, war die Löslichkeit des Trockenserums insofern verbessert, als die Lösung auch in Aq. dest. verhältnismäßig gut erfolgte. Obgleich immer noch eine geringe Flockenbildung bestehen blieb, machte sich diese in den Verdünnungen des gelösten Komplements in keiner Weise störend bemerkbar.

Tabelle I.
Hämolytischer Versuch.

0,25 ccm 5proz. gewaschenes Hammelblut +
0,25 ccm Komplement (1:20) +
Fallende Mengen Ambozeptorverdünnung 1:1000.
Die Zahlen geben die kleinste Ambozeptormenge an, die komplett löste.

Trockenserumprobe	Datum	Versuchs-Nr.	Frisches Meerschweinchen-Serum		Trockenserum + 0,1 Proz. NaCl 1:10		Löslichkeit des Trockenserums
			komplette Hämolyse nach		komplette Hämolyse nach		
			30 Min.	2 Std.	30 Min.	2 Std.	
			durch Ambozeptorverdünnung 1:1000		durch Ambozeptorverdünnung 1:1000		
I	29. 2. 24	1	0,4	0,1	0,4	0,4	gut
	7. 3. 24	2	0,4	0,2	0,4	0,4	„
II	11. 3. 24	3	0,3	0,1	0,3	0,3	„
	18. 3. 24	4	0,4	0,4	0,4	0.3	„
III	25. 4. 24	5	0,3	0,3	0,3	0,3	sehr schlecht
	29. 4. 24	6	0,5	0,3	0,5	0,2	sehr gut
	6. 5. 24	7	0,3	0,3	0,3	0,3	gut
	9. 5. 24	8	0,3	0,2	0,4	0,4	„
IV	13. 5. 24	9	0,3	0,2	0,3	0,3	schwer
	16. 5. 24	10	0,3	0,3	0,4	0,4	gut
	20. 5. 24	11	0,3	0,2	0,4	0,4	„

Wassermann-negativen Seren komplette Hämolyse. Auch das Ergebnis der Wassermann-negativen Seren bei Verwendung des Trockenkomplements ist nicht wiedergegeben, da sie sämtlich, in allen Fällen, vollständige Hämolyse ergaben. (Siehe Tabelle II S. 442.)

Da wir im Hauptversuch gewöhnlich das 5fache der im Vorversuch ermittelten kleinsten lösenden Dosis des Ambozeptors verwendeten, stellten wir auch die Versuche mit dem Trockenkomplement zunächst mit der gleichen Ambozeptorverdünnung an. Dabei zeigte sich, daß die Hemmung nicht so vollständig war wie bei Verwendung des frischen Komplements. Es wurde daher auf die Mindestmenge der nach den Vorschriften für die Wassermann-Reaktion zulässigen Ambozeptordosis zurückgegangen, also auf die 4fach lösende Dosis. Das Ergebnis war anscheinend unverändert, denn die Hemmung war bei 4facher und 5facher Dosis gleich, d. h. sie war in beiden Reihen gleichsinnig — entweder vollständig oder unvollständig. Auf Grund dieses Befundes wurde versuchsweise die Ambozeptormenge weiter vermindert, indem gleichzeitig neben Versuchen mit 5fach und 4fach lösender Dosis auch Versuche mit nur der 3fachen Ambozeptormenge des Vorversuches angestellt wurden. In 2 solchen Versuchsreihen stimmte das Ergebnis zwischen der 3fachen und 4fachen Ambozeptordosis überein, d. h. beide Male ergab sich vollständige Hemmung, während in dem einen Falle bei 5facher Dosis teilweise Lösung erfolgte, die besonders an der Nachlösung deutlich erkennbar war. Da nach diesen 2 Versuchen die Verwendung der 3fachen Ambozeptordosis, die praktisch auch nicht in Frage kommt, keine größeren Vorteile zu bieten schien als die 4fache, wurden solche Versuche nicht mehr angestellt. Weiterhin zeigte sich, daß auch beim Trockenkomplement die 4fach lösende Ambozeptordosis

Tabelle II.

Wassermann-Hauptversuch mit Trockenkomplement.
Der Hauptversuch fiel mit frischem Komplement bei allen diesen Seren mit +++ aus.

Trockenserumprobe	Datum	Syphilit. Serum No.	Zeit der Ablesung	5fach lösende Ambozeptordosis Extrakt A	5fach lösende Ambozeptordosis Extrakt B	5fach lösende Ambozeptordosis Extrakt C	4fach lösende Ambozeptordosis Extrakt A	4fach lösende Ambozeptordosis Extrakt B	4fach lösende Ambozeptordosis Extrakt C	3fach lösende Ambozeptordosis Extrakt A	3fach lösende Ambozeptordosis Extrakt B	3fach lösende Ambozeptordosis Extrakt C	Löslichkeit des Trockenserums
I	7. 3. 24	1	30 Min.	+++	+++	+++	+++	+++	+++	.	.	.	gut
		2	30 Min.	+++	+++	+++	+++	+++	+++	.	.	.	„
II	11. 3. 24	3	30 Min.	±	++	±	±	++	+	.	.	.	„
		4	30 Min.	+++	+++	+++	+++	+++	+++	.	.	.	„
	18. 3. 24	5	30 Min.	+++	+++	+++	+++	+++	+++	.	.	.	„
		6	30 Min.	++	+++	++	+++	+++	+++	.	.	.	
			2 Std.	±	++	±	+	++	+	.	.	.	„
III	25. 4. 24	7	30 Min.	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	sehr schlecht
		8	30 Min.	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	„
	6. 5. 24	9	30 Min.	++	++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	gut
			4 Std.	+	+	++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	
		10	30 Min.	++	++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	„
			4 Std.	+	+	++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	
	9. 5. 24	11	30 Min.	++	+++	+++	++	+++	+++	.	.	.	„
		12	30 Min.	+++	+++	+++	+++	+++	+++	.	.	.	„
IV	13. 5. 24	13	30 Min.	±	+++	++	++	+++	++	.	.	.	schwer
		14	30 Min.	+++	+++	+++	nicht angesetzt			.	.	.	„
	16. 5. 24	15	30 Min.	+++	+++	+++	+++	+++	+++	.	.	.	gut
		16	30 Min.	++	+++	+++	++	+++	+++	.	.	.	„
			2 Std.	+	+++	+++	++	+++	+++	.	.	.	
	20. 5. 24	17	30 Min.	+++	+++	+++	+++	+++	+++	.	.	.	„
		18	30 Min.	+++	+++	+++	+++	+++	+++	.	.	.	„

+++ bedeutet völlige Hemmung der Hämolyse.
++ „ unvollständige Hemmung der Hämolyse.
+ „ geringe Hemmung der Hämolyse.
Extrakt A: Alkoh. Luesleberextrakt.
„ B: Alkoh. Meerschweinchenherzextrakt mit Cholesterinzusatz.
„ C: „ Rinderherzextrakt mit Cholesterinzusatz.

durchaus genügt, um einerseits vollständige Hämolyse bei den Wassermann-negativen Seren und andererseits eine Hemmung bei den Wassermann-positiven zu erreichen. Allerdings trat auch bei Verwendung dieser Ambozeptordosis, wie erwähnt, zuweilen eine teilweise Hämolyse bei Wassermann-positiven Seren ein, die bei Verwendung frischen Komplements auch mit 5facher Ambozeptordosis ausblieb. Eine größere Menge als das 4fache der im Vorversuch ermittelten kleinsten lösenden Ambozeptordosis scheint daher bei Verwendung von Trockenkomplement nicht empfehlenswert zu sein[1]).

Fassen wir das Ergebnis unserer Versuche über die Brauchbarkeit des Trockenkomplements für die Wassermann-Reaktion zusammen, so ergibt sich:

1) Bei der uns nachträglich übersandten fünften Probe des Trockenkomplements, die, wie bereits erwähnt, sich durch bessere Löslichkeit auszeichnete, war das Ergebnis mit den Wassermann-positiven Seren im allgemeinen gleich günstig wie in dem letzten Versuch (20. 5. 24). Dagegen zeigten sich in einem Versuch Erschwerungen der Hämolyse bei den Wassermann-negativen Seren und einer Extraktkontrolle.

1) Die Auflösung gelingt mit 0,1proz. NaCl-Lösung besser als mit destilliertem Wasser. — 2) Im hämolytischen Vorversuch verhält sich das gelöste Trockenkomplement ebenso wie das frische von mehreren Tieren gewonnene Mischkomplement. — 3) Bei Wassermann-negativen Seren erfolgt fast stets die Hämolyse in gleicher Weise wie bei Verwendung von frischem Komplement, sowohl bei Anwendung des 5fachen wie auch des 4fachen und 3fachen der im Vorversuch ermittelten kleinsten lösenden Ambozeptordosis. — 4) Wassermann-positive Sera, die bei Verwendung frischen Komplements vollständige Hemmung ergaben, zeigten bei Verwendung der 4fach lösenden Ambozeptordosis in 13 Fällen ebenfalls vollständige Hemmung, in 3 Fällen geringe, in 1 Fall (Serum Nr. 3) beträchtliche Hämolyse. — 5) Es besteht die Möglichkeit, daß das Trockenkomplement bei sorgfältiger Einübung der Technik an Stelle frischen Komplements in der Komplementbindungsreaktion verwandt werden kann. Eine Nachprüfung seiner Brauchbarkeit in größeren Versuchsreihen wäre allerdings noch wünschenswert. Die Verwendbarkeit des Trockenkomplementes böte außer den bereits genannten Vorzügen eines konservierten Komplements vor allem auch im Hinblick auf den zeitweise geringen Komplementgehalt des Meerschweinchenblutes in den Wintermonaten, d. h. der Zeit der teilweisen Trockenfütterung, nicht geringe Vorteile.

Literatur.

Austin, Journ. Amer. Med. Assoc. 1914. S. 868. — Browning u. Mackie, Ztschr. f. Immunitätsf. Orig. Bd. 21. 1914. S. 422. — Dean, Journ. of Path. and Bact. Vol. 18. 1913; ref. i. Centralbl. f. Bioch. u. Biophys. Bd. 16. 1913/14. S. 349. — Dold, Dtsch. med. Woch. 1920. S. 62. — Friedberger, Berl. klin. Woch. 1907. S. 1299. — Ders., Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 46. 1908. S. 441. — Grigorowitsch, Charkoffsch. med. Journ. Bd. 1. 1913. S. 57; ref. Centralbl. f. Bioch. u. Biophys. Bd. 16. 1913/14. S. 71. — Hammerschmidt, Münch. med. Woch. 1920. S. 1382. — Ito, Ztschr. f. Immunitätsf. Orig. Bd. 15. 1912. S. 97. — Koenigsfeld, Arch. f. exp. Path. u. Pharm. Bd. 99. 1923. S. 162. — Massol et Grysez, Compt. Rend. Soc. Biol. T. 68. 1910. — Massol et Nowaczinski, Ibid. T. 69. 1910. — Morgenroth, Wiener klin. Woch. 1903. Nr. 43; 1904. Nr. 5; Therap. Monatsh. Bd. 26. 1912. S. 95. — Rhamy, Journ. Amer. Med. Assoc. Vol. 69. 1917. — Scimone, Ztschr. f. Immunitätsf. Bd. 36. 1923. S. 443. — Sivori, Ann. Ist. Maragliano Vol. 6. p. 259; ref. Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Ref. Bd. 58. 1913. S. 396.

Nachdruck verboten.

Bakterienagglutination in Zuckerlösungen (biologische Säureagglutination).

[Aus dem Staatl. Hygienischen Institut in Beuthen (O.-Schl.) (Direktor: Geheimer Medizinalrat Prof. Dr. v. Lingelsheim).]

Von **E. Jacobitz.**

Gelegentlich von anderer Seite zur diagnostischen Trennung der Diphtheriebazillen und der diphtheriebazillenähnlichen Stäbchen 1921/22

im Hygienischen Institut in Beuthen ausgeführter Untersuchungen[1]), zu denen u. a. Lösungen verschiedener Zuckerarten mitherangezogen wurden, konnte ich den für die damaligen Untersuchungen nebensächlichen Befund erheben, daß in der Mehrzahl der mit den verschiedenen Zuckerarten hergestellten und mit Diphtherie- und Pseudodiphtheriebazillen geimpften Lösungen außer Säuerung noch eine mehr oder weniger deutliche Zusammenballung der Bakterien eintrat. In den betreffenden, mit Lackmuszusatz versehenen Zuckerröhrchen setzte im Anschluß an allmählich sich ausbildende Rötung der Lösung, das Zeichen der eingetretenen Säurebildung, eine mit der wachsenden Säuremenge sich steigernde Agglutination der Diphtherie- und Pseudodiphtheriebazillen ein, so daß also die durch die Lebenstätigung der eingeimpften Bakterien hervorgerufene Säuerung des zuckerhaltigen Nährbodens offenbar die von den Bakterien selbstgeschaffene Vorbedingung für ihre eigene Agglutination darstellte.

Da sich in der mir zur Verfügung stehenden Literatur über diese Art der Bakterienagglutination keine Angaben fanden, ging ich daran, die Agglutination der Diphtheriebazillen und der ihnen ähnlichen Stäbchen in Zuckerlösungen weiter zu prüfen, diese Untersuchungen auf andere Bakterien auszudehnen und eine etwaige Klärung über die Stellung dieser „besonderen Art Säureagglutination" zu der „künstlichen Säureagglutination nach Michaelis" und zu der Immunagglutination mit in den Bereich der Untersuchungen zu ziehen.

Die beiden ersten, nur kurzen Mitteilungen von Klein und Slesarewski[2]) über den gleichen Gegenstand erschienen erst, nachdem ich die nachfolgend wiedergegebenen Untersuchungen bereits längere Zeit in Angriff genommen hatte. Die Ergebnisse dieser beiden Arbeiten, nach denen das Verhalten der Bazillen der Typhus-Coli-Gruppe, ferner von Ruhrbazillen, von Choleravibrionen, von Staphylokokken und des Bac. proteus X[19] nur gegenüber 2 Zuckerarten, Dextrose und Lävulose in 2proz. Lösungen, geprüft worden war, stimmten mit den diesbezüglichen Befunden meiner Untersuchungen, die von vornherein umfangreicher angelegt waren, überein[3]).

Bei der Zersetzung der verschiedenen Zucker durch Bakterien werden in der Hauptsache Säuren und außerdem noch Alkohol[4]) gebildet. Beide, Säuren[5]) und Alkohol[6]) vermögen unter gewissen Bedingungen Bakterien zu agglutinieren. Die Säure bildet bei der Zuckerzersetzung durch Bakterien das Hauptprodukt, während der

1) Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 89. S. 120.

2) Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 88. S. 143 u. 589.

3) Die 3. Mitteilung Kleins (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 90. S. 198), in der er über gleichartige Versuche mit anderen Zuckerarten berichtete, kam mir erst zur Kenntnis, als der erste Teil meiner Untersuchungen, der sich mit dem agglutinatorischen Verhalten verschiedener Bakterienarten in den verschiedenen Zuckerlösungen beschäftigt hatte, abgeschlossen und bereits in der vorliegenden Form niedergeschrieben war. Ich habe daher und weil die weiteren Ergebnisse Kleins, soweit seine Untersuchungen gleiche Fragen betrafen, mit meinen Befunden in den wesentlichen Punkten übereinstimmten, davon Abstand genommen, nachträglich dies an den betreffenden Stellen zu vermerken. Der zweite Teil meiner Versuche konnte infolge mehrfacher Unterbrechungen aus äußeren Gründen erst sehr viel später fertiggestellt werden und so die Veröffentlichung der ganzen Arbeit erst jetzt erfolgen.

4) Kolle u. Wassermann, Handb. d. pathogen. Mikroorganismen. 2. Aufl. Bd. I. S. 119 u. Bd. III. S. 130.

5) Ebenda. Bd. III. S. 617 u. 618.

6) Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 83. S. 576.

noch entstehende Alkohol dagegen zurücktritt. Die Agglutination von Bakterien in den durch ihre eigene Lebenstätigkeit zersetzten Zuckerlösungen ist demnach wohl mit Recht als eine Säureagglutination anzusehen und gehört als solche ihrer Art nach mit der künstlichen Säureagglutination nach Michaelis in eine Gruppe, ist aber durch den biologischen Entstehungsvorgang, die Selbsterzeugung der zur Agglutination erforderlichen Säuremenge bzw. Wasserstoffionenkonzentration, von der künstlichen Säureagglutination scharf unterschieden. Ich habe daher, um die Art und diesen speziellen Charakter der Reaktion zum Ausdruck zu bringen, die Reaktion als **„biologische Säureagglutination"** bezeichnet. Klein benennt sie in seinen Mitteilungen mit der allgemeineren Bezeichnung „Gärungsagglutination".

I.

Zu meinen Untersuchungen wurden Zuckerlösungen verwendet, die auf 100 ccm Aqua dest. 1,0 oder 2,0 g, bei einigen Versuchen auch 5,0 und 10,0 g und bei einigen anderen Versuchen abgestufte Mengen von 1,0 bis 0,02 g der verschiedenen Zuckerarten, weiter Pepton Witte 1,0 g, Kochsalz 0,5 g und Lackmuslösung (Kubel-Tiemann) 5,0 ccm enthielten. Nach Fertigstellung und Sterilisation wurde den Lösungen so viel sterile Sodalösung zugesetzt, wie es der gewünschte Wasserstoffexponent (P_H) der Lösung (durchschnittlich $P_H = 7{,}3$) erforderlich machte. Zur Bestimmung des Wasserstoffexponenten (P_H) wurde der Michaelis-Walpolesche Komparator verwendet. Folgende Zuckerarten dienten zur Herstellung der Lösungen: Dextrose, Lävulose, Maltose, Saccharose, Laktose, Galaktose und Mannit. Zu ihrer Impfung wurden außer Diphtherie- und Pseudodiphtheriebazillen die Typhus-Coli-Gruppe: Typhusbazillen, Paratyphusbazillen A und B, Bac. enteritidis Gärtner, Bac. coli, ferner die Ruhrbazillen, Bac. Shiga-Kruse, Bac. Flexner und Bac. Y, sodann verschiedene Kokkenarten: Staphylokokken, Streptokokken, Pneumokokken, Meningokokken und Micrococcus catarrhalis benutzt. Die verwendeten Bakterienstämme waren zum Teil ältere, zum Teil frisch gezüchtete.

Die für die einzelnen Versuche bestimmten Kulturen wurden immer auf schwach alkalischen Nährböden ($P_H = 7{,}3$) angelegt, so für alle Versuche eine in seiner Reaktion gleichartige Nährsubstanz verwendet und damit der etwa durch verschiedene Reaktion des Nährbodens[1]) bedingte Einfluß auf die Agglutinabilität der Bakterien möglichst ausgeschaltet. Weiter wurde bei den Kulturen immer auf möglichst gleichmäßiges Wachstum geachtet und von den so gezüchteten Kulturen immer bestimmte Mengen in die mit derselben Menge (10 ccm) Zuckerlösung gefüllten Reagenzgläser verimpft. — Als Impfmaterial selbst dienten Bouillonkulturen oder Plattenabschwemmungen der Bakterien in physiologischer Kochsalzlösung und in Aqua dest., außerdem wurden bei einer Anzahl von Versuchen von festen Nährböden je eine bestimmte Kulturmenge in den Zuckerlösungen verrieben. Im allgemeinen war durch diese verschiedenen Impfungsarten kein Unterschied im Verlauf der Versuche und in dem Endergebnis bedingt. Eine Ausnahme machten nur die

1) Ztschr. f. Hyg. Bd. 46. S. 229, u. Münch. med. Woch. 1913. Nr. 17, u. a.

Abschwemmungen mit Aqua dest., wie gleich hier hervorgehoben sei. Ausgehend von der Feststellung [1]), daß bei der künstlichen Säureagglutination Kochsalz störend, Aqua destillata aber begünstigend wirkt, wurden bei allen geprüften Bakterien, vor allem in den Zuckerlösungen, in denen die betreffende Bazillenart gar nicht oder nur sehr unvollkommen agglutiniert wurde, aber auch sonst verschiedentlich zum Vergleich mit dem anderen Impfmaterial (Abschwemmung in Kochsalzlösung, Bouillonkultur, Verreiben von festem Nährboden) Bakterienabschwemmungen mit Aqua dest. mitverwendet. Es konnte immer wieder der Befund erhoben werden, daß bei Anwendung von Aqua dest. als Suspensionsmittel für die Mikroorganismen Säuerung und Ausflockung ebenfalls eintraten, aber nicht nur nicht verstärkt wurden, sondern oft schwächer waren als bei Verwendung von Impfmaterial, das mit physiologischer Kochsalzlösung abgeschwemmt worden war. Nach unseren Untersuchungsergebnissen besteht demnach in dieser Beziehung ein Unterschied zwischen der künstlichen und der biologischen Säureagglutination; bei der letzteren wird durch Benutzung von Aqua dest. zur Bakterienabschwemmung eine Besserung der Ausflockung nicht herbeigeführt, und Kochsalz wirkt bei ihr nicht hemmend auf den Eintritt und Ausfall der Reaktion. Die Prüfung der Versuchsröhrchen auf etwa eingetretene Agglutination geschah makroskopisch, gegebenenfalls unter Zuhilfenahme der Lupe, oft wurde das Ergebnis noch mikroskopisch kontrolliert, besonders dann immer, wenn die Zusammenballung makroskopisch weniger deutlich war.

Nach den Untersuchungen von Michaelis, Beniasch u. a. [2]) ist bei der künstlichen Säureagglutination nicht die Art der verwendeten Säure, sondern die in der Agglutinationsflüssigkeit vorhandene Wasserstoffionenkonzentration der ausschlaggebende Faktor für die Bakterienzusammenballung. Bei der biologischen Säureagglutination in Zuckerlösungen müssen die Bakterien die zu ihrer Ausflockung notwendige Wasserstoffionenkonzentration selbst schaffen. Die Feststellung derselben in den Zuckerlösungen vor der Impfung und nach Eintritt der Agglutination, sowie der Vergleich mit den bei der künstlichen Säureagglutination der betreffenden Bakterien gefundenen Werten erschien daher am Platze, um so mehr, als von vornherein die Möglichkeit nicht auszuschließen war, daß die bei der Agglutination der verschiedenen Bakterienarten festgestellten Zahlen sich vielleicht differentialdiagnostisch verwerten lassen könnten. Als Kontrolle wurden bei den einzelnen Versuchen immer Röhrchen ohne Zuckerzusatz, deren Lösung sonst aber genau dieselben Bestandteile enthielt wie die Röhrchen mit Zucker, mit der gleichen Menge Kultur beimpft wie die letzteren. In diesen Kontrollröhrchen ohne Zucker wurde niemals Agglutination oder Säuerung beobachtet.

Aus bekannten Gründen ist es nicht möglich, die Protokolle und Tabellen über die mit den obengenannten Bakterienarten vorgenommenen einzelnen Versuche, ihre Wiederholungen und Abänderungen ausführlich

1) Ztschr. f. Immunitätsforsch. Orig. Bd. 12. S. 302 u. Bd. 24. S. 492.
2) Dtsch. med. Woch. 1911. S. 969; Ztschr. f. Immunitätsf. Orig. Bd. 12. S. 314. Bd. 23. S. 327.

wiederzugeben und die Ergebnisse einzeln zu erörtern. Der folgende Bericht über die Versuche und ihre Ergebnisse kann daher nur zusammenfassende Uebersichten und Durchschnittswerte geben.

1. Diphtheriebazillen und diesen ähnliche Stäbchen.

Es wurden 15 Diphtheriebazillenstämme auf ihr agglutinatorisches Verhalten in Zuckerlösungen untersucht.

Diese Diphtheriebazillen verhielten sich den Zuckerarten gegenüber im allgemeinen übereinstimmend. Eine spontane Zusammenballung der Diphtheriebazillen wurde beim Einreiben von Material, welches direkt einer frisch bewachsenen Loeffler-Platte entnommen wurde, oder durch langsames Abschwemmen einer solchen mit physiologischer Kochsalzlösung oder mit Aqua destillata gewonnen war, so gut wie niemals bemerkt. In den vereinzelten Fällen, in denen sie eintrat, wurde die betreffende Kultur ausgeschaltet.

Während die Säurebildung meist schon nach 7—8 Std. bei 37° in den geimpften Röhrchen einsetzte, war eine wahrnehmbare Ausflockung der Diphtheriebazillen in dieser Zeit noch nicht festzustellen. Erst die nächste Prüfung der Versuchsröhrchen, nachdem diese etwa 16—18 Std. bei 37° gehalten worden waren, ließ eine deutliche, wenn auch noch schwache, Agglutination der Diphtheriebazillen erkennen. Nach 24 Std., seltener erst nach 48 Std., erreichte die Agglutination ihren Höhepunkt.

In Zuckerlösungen mit Dextrose, Lävulose, Maltose und Galaktose trat stets, unabhängig von dem Wasserstoffexponenten der ungeimpften Lösungen, Zusammenballung der Diphtheriebazillen ein. Die Agglutination in Dextrose-, Lävulose-, Maltose- und Galaktoselösungen war bei allen geprüften Diphtheriestämmen sehr ausgesprochen. Die Unterschiede in der Stärke der Agglutination der einzelnen Kulturen in den verschiedenen Lösungen waren nur gering, bei den meisten war in den Lävuloselösungen der Ausfall der Agglutination stärker als in den anderen. Oft war die Flüssigkeit klar, in derselben noch feine und gröbere Flocken verteilt, während der Rest der Bazillen zusammengeballt am Boden des Reagenzglases lag. Die mikroskopische Untersuchung ergab, daß die feinen und gröberen Flocken und der Bodensatz aus zusammengeballten Diphtheriebazillen bestanden. In den Saccharoselösungen wurde niemals Agglutination der Diphtheriebazillen beobachtet.

Ebenso inagglutinabel waren die Stämme in den Mannitlösungen, wenigstens bei schwach alkalischer Reaktion der 1 Proz. oder 2 Proz. Mannit enthaltenden Lösungen. Dagegen wurde wenigstens ein Teil der Stämme in den Mannitlösungen agglutiniert, wenn die ungeimpften Lösungen leicht sauer ($P_H = 6{,}6$ bis $6{,}9$) eingestellt wurden. Die leicht saure Reaktion der ungeimpften Lösungen begünstigte anscheinend die Zersetzung des von den Diphtheriebazillen schwer angreifbaren Mannits. Dasselbe Verhalten der Diphtheriebazillen konnte auch der Laktose gegenüber festgestellt werden. Die Laktose wird im allgemeinen ebenfalls schwer und nicht von allen Diphtheriebazillenstämmen zersetzt, aber nach unseren Beobachtungen immerhin noch leichter als Mannit. So fand sich unter den geprüften Diphtheriebazillenstämmen einer, der Laktose bei unseren Versuchen stets zersetzte und in den Laktoselösungen agglutiniert wurde. Von den übrigen Stämmen versagte eine Reihe in den Laktoselösungen vollständig,

sowohl wenn der Wasserstoffexponent der ungeimpften Lösung unter 7,0, als auch wenn er über 7,0 war. Bei einer weiteren Gruppe war in den Laktoselösungen Agglutination zu erzielen, wenn der Wasserstoffexponent der ungeimpften Lösungen unter 7,0 war, $P_H = 6{,}7$ bis 6,9. Die schwach saure Reaktion der Zuckerlösung begünstigte also auch der Laktose gegenüber die Angriffsmöglichkeit der betreffenden Diphtheriebazillenstämme. Dieses Ergebnis war aber nicht immer gleichmäßig. Es kam bei Wiederholungen vor, daß derselbe Diphtheriebazillenstamm versagte. Die Frage, ob hier möglicherweise an den verschiedenen Tagen geringe Abweichungen im Nährboden, z. B. bedingt durch längeres oder kürzeres Sterilisieren der Zuckerlösungen oder dergl., bestanden und eine Rolle gespielt haben, mußte offen bleiben, da derartige Untersuchungen zu weit über den Rahmen der zunächst in Betracht kommenden hinausgegangen wären. Bemerkt sei noch, daß durch Verwendung von Aqua dest. an Stelle von physiologischer Kochsalzlösung für die Diphtheriebazillenabschwemmungen (s. oben S. 446) keinerlei Besserung in den Ergebnissen mit den Mannitlösungen und den Laktoselösungen erreicht wurde.

Der auf der Höhe der Agglutination gefundene Wasserstoffexponent zeigte für die einzelnen untersuchten Stämme und bei diesen wieder nicht selten für die einzelnen Zuckerarten Abweichungen, die allerdings innerhalb einer bestimmten Breite lagen. Eine bei allen oder bei den meisten Diphtheriebazillenstämmen übereinstimmende, bestimmte Zahl für den Wasserstoffexponenten auf der Höhe der Agglutination war nicht festzustellen. So war, um ein Beispiel zu geben, bei einer Versuchsreihe der Wasserstoffexponent bei:

Diphtheriebazillus 40: in Dextroselösung = 4,9
in Maltoselösung = 4,9
in Lävuloselösung = 5,1 und bei
Diphtheriebazillus 79: in Dextroselösung = 5,1
in Maltoselösung = 5,2
in Lävuloselösung = 5,1

Dieses Ergebnis ist nicht befremdlich, wenn man berücksichtigt, daß es durch eine gleichartige, aber individuell abgestufte Lebenstätigkeit verschiedener Einzelglieder einer Bakterienart (Zersetzung des Zuckers durch verschiedene Diphtheriebazillen) bedingt ist. Auch bei der künstlichen Säureagglutination ist für das Optimum der Diphtheriebazillenagglutination[1]) nicht eine bestimmte, für alle Stämme geltende Zahl, sondern ebenfalls eine gewisse Optimumsbreite gefunden worden. Bei den übrigen von uns untersuchten Diphtheriestämmen war der Wasserstoffexponent (P_H) auf der Höhe der Agglutination ungefähr der gleiche, wie bei den beiden als Beispiel aufgeführten Diphtheriestämmen 40 und 79, d. h. er bewegte sich um 5,0 herum, unter 4,6 wurde bei den geprüften Kulturen nicht beobachtet, nach oben hin bildete für die Agglutination auf ihrer Höhe etwa $P_H = 5{,}3$ die Grenze. Diese bei der biologischen Säureagglutination gefundene Agglutinationsbreite $P_H = 4{,}6$ bis 5,3 unterscheidet sich sehr wesentlich von dem Agglutinationsoptimum der Diphtheriebazillen bei der künstlichen Säureagglutination[2]): $P_H = 2{,}9$ bis 3,5. Bei der künstlichen Säureagglutination nach Michaelis tritt in sauren Lösungen mit dem Wasserstoffexponent $P_H = 4{,}6$ bis 5,3

1) Ztschr. f. Immunitätsf. Orig. Bd. 12. S. 303.
2) Ebenda. Orig. Bd. 12. S. 305.

noch keine Agglutination der Diphtheriebazillen ein. Um diese zu erreichen, sind künstliche Säurelösungen mit erheblich niederem Wasserstoffexponenten, PH = 2,9 bis 3,5, notwendig. Gleichzeitig mit der Säurebildung in Zuckerlösungen muß der Diphtheriebazillus sich selbst demnach in einen Zustand bringen, der seine Ausflockung bei einem höheren Wasserstoffexponenten möglich macht, sie also unter Bedingungen herbeiführt, die künstlich bisher wenigstens nicht dargestellt wurden. Hierin liegt ein prinzipieller Unterschied zwischen den beiden Arten der Säureagglutination. Bei der Versuchsreihe, der das oben angeführte Beispiel entnommen wurde, war der Wasserstoffexponent der ungeimpften Zuckerlösungen PH = 7,2. Bei einer anderen Versuchsreihe, bei der PH der ungeimpften Lösungen unter 7,0 und absichtlich für die einzelnen Zuckerarten nicht übereinstimmend eingestellt war (Dextroselösung PH = 6,7 Maltoselösung PH = 6,5 — Lävuloselösung PH = 6,3), war der Wasserstoffexponent bei der stärksten Agglutination desselben Diphtheriestammes Nr. 40: 4,7—4,9—4,9, also kein nennenswerter Unterschied in dem Endergebnis trotz der nicht unerheblichen Abweichungen des Wasserstoffexponenten in den ungeimpften Zuckerlösungen der beiden Versuchsreihen. Das Gleiche ergab sich, wenn der Wasserstoffexponent der ungeimpften Lösung erheblich höher war; so war z. B. bei einem Wasserstoffexponenten, PH = 7,8 der ungeimpften Lösungen in den Dextroseröhrchen mit voll ausgesprochener Agglutination wiederum PH = 4,9. Jedenfalls hatte der verschieden hohe Wasserstoffexponent der ungeimpften Zuckerlösungen danach keinen besonderen Einfluß auf den Verlauf und das endgültige Ergebnis der Reaktion, wenigstens bei den Zuckerarten, die leicht und ausgiebig von den Diphtheriebazillen zersetzt wurden, während bei den Zuckerarten, die schwerer der Zersetzung durch die Diphtheriebazillen zugänglich waren, in einer schwach sauren Lösung mit einem Wasserstoffexponenten ein wenig unter 7,0 die Zersetzung der Zuckerart durch die Diphtheriebazillen erleichtert wurde (s. oben S. 448 das über Laktose- und Mannitlösungen Angeführte).

Bei den bisher mitgeteilten Untersuchungsergebnissen handelte es sich um Lösungen, die 1,0 und 2,0 Zucker auf 100 Aqua dest. nebst den oben angeführten Zusätzen enthielten. Weitere Versuche sollten feststellen, ob eine Agglutination der Diphtheriebazillen auch eintrete, wenn die Zuckermenge verringert würde, bzw. welche kleinste Zuckermenge unter den gewählten Versuchsbedingungen von den Diphtheriebazillen unter Säurebildung angegriffen würde, und zwar unter so reichlicher Säureentwicklung, daß damit zugleich eine Zusammenballung der Diphtheriebazillen herbeigeführt würde. Es wurden zu diesem Zwecke abgestufte Lösungen mit 1,0—0,5—0,2—0,1—0,05 Dextrose in 100 Aq. dest. mit den oben angegebenen Zusätzen hergestellt und mit der gleichen Menge Diphtheriekultur geimpft. Es ergab sich, daß bis zur Verdünnung 0,2:100 (1:500) noch reichliche Agglutination bei deutlicher Säuerung eintrat, PH am 3. Tage bei $37^0 = 5,3$. Auch bei 0,1:100 (1:1000) war noch eine geringe Flockenbildung bei blau-rötlicher Verfärbung der Dextroselösung festzustellen, PH hier am 3. Tage bei $37^0 = 6,5$, während in der ungeimpften Dextroselösung PH = 7,4 war. In dem Röhrchen mit 0,05 Dextrose auf 100 Aq. dest. (1:2000) wurde eine Zusammenballung

der eingeimpften Diphtheriebazillen nicht mehr beobachtet. Bemerkt sei noch, daß in den Röhrchen mit den geringen Zuckermengen (0,5 und 0,2:100 Aq. dest.) der während 3 Tagen immer nach 24 Std. festgestellte Wasserstoffexponent (PH) nicht unter 5,2 betrug, während in der Lösung mit der größeren Zuckermenge 1:100 PH = 4,9 war, hier also die Säurebildung (Wasserstoffionenkonzentration) anscheinend entsprechend der größeren Menge Zucker eine größere war.

Ebenso wie aus diesen geringen Mengen Zucker durch die Lebenstätigkeit des Diphtheriebazillus so viel Säure abgespalten wurde, daß die in den Reagenzröhrchen enthaltene Lackmuslösung rot gefärbt und eine starke Agglutination der Diphtheriebazillen herbeigeführt wurde, so wurden durch den Diphtheriebazillus auch in erheblich stärkeren Zuckerlösungen als 2:100 Zersetzung des Zuckers herbeigeführt und dadurch die für seine Agglutination notwendige Wasserstoffionenkonzentration erzeugt. In Zuckerlösungen von 5:100 und 10:100 trat genau in der gleichen Weise und Stärke wie in den Lösungen 1:100 und 2:100 Agglutination der Diphtheriebazillen unter Säuerung der Flüssigkeit ein. Der Wasserstoffexponent war bei den einzelnen Zuckerarten in den stärkste Agglutination aufweisenden Röhrchen bei den verschiedenen Diphtheriebazillenstämmen um 5,0 herum, wich also von den bei den Versuchen mit 1proz. und 2proz. Lösungen gefundenen Werten nicht ab. In den Laktose- und Mannitröhrchen dieser Versuchsreihen mit 5proz. und 10proz. Lösungen war das Ergebnis der Diphtheriebazillenagglutination ebenfalls dasselbe wie in den Röhrchen mit 1 Proz. und 2 Proz. Laktose und Mannit, es trat auch in ihnen keine oder nur schwache Ausflockung der Diphtheriebazillen ein.

Es wurde sodann noch die Frage geprüft, ob und wie schnell die Diphtheriebazillen in der durch ihre eigene Lebenstätigkeit aus einer Zuckerlösung geschaffenen sauren Flüssigkeit zugrunde gehen. Hierzu wurden bei den einzelnen Versuchsreihen die zusammengeballten Diphtheriebazillen auf Loeffler-Platten übertragen und diese auf etwaiges Wachstum der überimpften Bazillen beobachtet. Es ergab sich, daß die Diphtheriebazillen im allgemeinen nach 3 Tagen noch gut entwicklungsfähig waren und nur ganz ausnahmsweise kein Wachstum auf der Loeffler-Platte mehr eintrat. Diese wenigen Ausnahmen fielen jedoch keineswegs immer mit dem höheren Säuregrad in dem betreffenden Röhrchen zusammen, sondern es kam vor, daß Proben aus Röhrchen mit schwächerem Säuregrad (höherem PH) auf der Platte nicht mehr angingen, während die aus einem Röhrchen desselben Stammes mit niederem Wasserstoffexponenten entnommene Probe noch Wachstum zeigte. Wenn auch hier möglicherweise Zufälle bei der Entnahme und Uebertragung mitgespielt haben könnten, so sprach doch der Umstand, daß die aus denselben Röhrchen am nächsten Tage entnommenen Proben kein Wachstum mehr zeigten, dafür, daß durch die Säurebildung in eigenen Kulturen gewisse empfindlichere unter den von uns benutzten Diphtheriebazillenstämmen so geschädigt wurden, daß sie am 4. Tage beim Uebertragen auf neuen Nährboden nicht mehr wuchsen.

Bei den übrigen Diphtheriestämmen hörte meist nach 6 Tagen, bei einzelnen nach 7 bzw. 8 Tagen das Wachstum der auf frischen Nährboden übertragenen agglutinierten Bazillen auf.

Im Gegensatz zu diesen Ergebnissen steht die Tatsache, daß bei

der künstlichen Säureagglutination die agglutinierten Bazillen rasch absterben[1]), wie eigene Versuche bestätigten.

Von Diphtheriebazillen ähnlichen Stäbchen wurden 9 verschiedene Stämme auf ihr agglutinatorisches Verhalten in Zuckerlösungen geprüft. Benutzt wurden hierzu 1proz., 2proz., 5proz. und 10proz. Lösungen der oben aufgeführten Zuckerarten. Die Impfung der 10 ccm enthaltenden Zuckerröhrchen geschah entweder durch Verreiben einer bestimmten Kulturmenge oder mit 0,5 ccm einer Abschwemmung von Agar- oder Loeffler-Schrägröhrchen oder Loeffler-Platten mit Kochsalzlösung und mit Aq. dest. Irgendein Unterschied, insbesondere eine Besserung in dem Ergebnis durch die Abschwemmung mit Aq. dest., war durch dieses verschiedene Impfmaterial nicht bedingt. Spontane Zusammenballung wurde bei den Pseudodiphtheriekulturen weder beim Verreiben noch in den Abschwemmungen beobachtet.

Die diphtheriebazillenähnlichen Stäbchen zeigten hinsichtlich ihrer zuckerzersetzenden Eigenschaft und ihrer Agglutinabilität unter sich ein abweichendes Verhalten. Im allgemeinen traten Säuerung und Agglutination bei ihnen langsamer ein als bei den echten Diphtheriebazillen. Bei einem Stamme trat dies besonders hervor. Erst am 3. Tage bei 37° waren stärkere Säuerung ($P_H = 5{,}0—5{,}3$) und Ausflockung in den Lävulose-, Dextrose-, Maltose- und Galaktoseröhrchen festzustellen. Am deutlichsten war die Zusammenballung in den Lävuloselösungen, erheblich schwächer in den Dextroselösungen und in den Maltoselösungen, während sie in den Galaktoseröhrchen wieder etwas stärker war als in den letztgenannten Zuckerlösungen.

Zwei Stämme wurden in keiner der Zuckerlösungen ausgeflockt. Diese Stämme glichen morphologisch durchaus den Pseudodiphtheriebazillen. Es waren kurze grampositive Stäbchen mit der für diese Bazillenart eigentümlichen Form und Lagerung. Mit der Neisserschen Färbung zeigten sie keine Polkörnchen. Ob dieses morphologische Verhalten eines Bazillus allein schon die Berechtigung gibt, ihn den Pseudodiphtheriebazillen zuzurechnen, wenn ihm außer der Toxinbildung noch die zweite[2]) dem Diphtheriebazillus eigentümliche Eigenschaft, Zucker unter Säurebildung zu zersetzen, so ganz fehlt, erscheint immerhin zweifelhaft. Es werden den Pseudodiphtheriebazillen eine ganze Anzahl von Mikroorganismen zugerechnet, die dem Diphtheriebazillus nur in der Form, Lagerung und Färbbarkeit nach Gram ähneln, sonst ihm aber biologisch fernstehen. Zu dieser Art Pseudodiphtheriebazillen gehörten auch diese von uns geprüften beiden Stäbchen. Ihre Herkunft war nicht mehr festzustellen.

Zwei weitere Pseudodiphtheriebazillenstämme gehörten insofern zusammen, als sie beide in den Saccharoselösungen[3]) Säure bildeten und agglutiniert wurden (Wasserstoffexponent bei stärkster Ausflockung $P_H = 4{,}7$). Gute Zusammenballung dieser beiden Stämme zeigte sich ferner in den Dextrose-, Lävulose- und Galaktoselösungen (Wasserstoffexponent bei stärkster Ausflockung: $P_H = 4{,}7$). In den Lösungen mit 5 Proz. und 10 Proz. Maltose ($P_H = 7{,}4$) fand deutliche, wenn auch nicht sehr ausgesprochene Ag-

1) Ztschr. f. Immunitätsf. Orig. Bd. 12. S. 284; Bd. 24. S. 491.
2) Kolle u. Wassermann, Handb. d. pathogen. Mikroorganismen. 2. Aufl. Bd. 5. S. 951.
3) Arch. f. Hyg. Bd. 66. S. 326.

glutination und Säuerung statt, während in den Maltoselösungen mit 1:100 und 2:100 ($P_H = 7{,}4$) bei einigen Versuchen Säuerung und Ausflockung ausblieben, bei anderen zwar eintraten, aber dann immer erheblich schwächer als in den Lösungen mit 5 Proz. und 10 Proz. Maltose.

Sehr deutlich trat bei diesen Versuchen der schon oben (S. 446) betonte Unterschied zwischen Kochsalzlösung und Aqua destillata als Abschwemmungsflüssigkeit für die Kulturen bei der biologischen Säureagglutination hervor. Bei Verwendung von Aq. dest. an Stelle von Kochsalzlösung blieben nicht nur in der 1proz. und in der 2proz., sondern auch in der 5proz. Maltoselösung Agglutination und Säuerung aus, und zwar sowohl in Lösungen mit dem Wasserstoffexponenten über, als auch unter 7,0 ($P_H = 6{,}7$ und 7,4). War physiol. Kochsalzlösung die Abschwemmungsflüssigkeit, so trat bereits in der 5proz. Maltoselösung ebenso prompt wie in der 10proz. Maltoselösung Säuerung und Zusammenballung ein, sowohl bei dem Wasserstoffexponenten $P_H = 7{,}4$ als auch bei $P_H = 6{,}7$.

Der immerhin auffallende Befund, daß erst bei stärkeren Zuckerkonzentrationen (5:100 und 10:100) ausgesprochene Säuerung und Agglutination einsetzten, in den schwächeren (1:100 und 2:100) aber nicht oder nur schwach, findet vielleicht darin eine Erklärung: Die Laktose und Maltose werden von den Pseudodiphtheriebazillen gar nicht oder nur sehr schwach angegriffen und dann anscheinend nur unvollkommen zersetzt, so daß die dabei entstehende Säuremenge in den Lösungen 1:100 und 2:100 meist so gering ist, daß dadurch ein sichtbarer Umschlag in dem Lackmuszusatz oder gar eine Ausflockung der Bazillen noch nicht zutage tritt. Erst bei der Einwirkung auf größere Mengen Maltose (5:100 und 10:100) entsteht so viel Säure, daß ein deutlicher Umschlag der Lackmusmolke in Rot eintritt und eine Ausflockung der eingeimpften Bakterien herbeigeführt wird.

Außer bei diesen beiden wurde noch bei einem anderen Pseudodiphtheriestamm ein ähnliches Verhalten in den Maltoselösungen festgestellt: in der Lösung 1:100 noch keine Agglutination und keine Säurebildung, aber bei diesem Stamm bereits in der Lösung 2:100 ebenso wie in den höher konzentrierten Lösungen ausgesprochene Ausflockung und Säuerung. Im übrigen glich dieser Stamm den beiden anderen Pseudodiphtheriebazillenstämmen insofern nicht, als er Saccharoselösungen vollständig unverändert ließ. In den Dextrose-, Lävulose- und Galaktoselösungen wurde er ebenso wie die noch untersuchten 3 Pseudodiphtheriebazillenstämme, die ebenfalls in Saccharose nicht ausgeflockt wurden, gut agglutiniert (Wasserstoffexponent bei stärkster Agglutination: $P_H = 4{,}9—5{,}1$), schwach ebenso wie diese in den Laktoseröhrchen (Wasserstoffexponent: $P_H = 6{,}1$).

Der Wasserstoffexponent auf der Höhe der biologischen Säureagglutination der Pseudodiphtheriebazillen war etwa der gleiche wie der der Diphtheriebazillen, nämlich $P_H = 4{,}6$ bis $5{,}3$. Ein nennenswerter Unterschied oder ein Unterscheidungsmerkmal bestand bei der von uns gewählten Versuchsanordnung, jedenfalls in dieser Hinsicht, zwischen den echten Diphtheriebazillen und den ihnen ähnlichen Stäbchen nicht. Nach den Untersuchungen von Beniasch[1]) ist bei der künstlichen Säureagglutination der Pseudodiphtheriebazillen das

Optimum der Wasserstoffionenkonzentration gleichfalls dasselbe wie das der echten Diphtheriebazillen.

Bei jeder Versuchsreihe vorgenommene Uebertragungen aus den Röhrchen mit den agglutinierten Bazillen auf frische Nährböden ergaben bei unseren Pseudodiphtheriebazillenstämmen im allgemeinen eine etwas geringere Widerstandskraft gegen die selbsterzeugte Säure als bei den Diphtheriebazillen. Nach 5 Tagen war kein Wachstum mehr zu erkennen.

2. Typhus-Coli-Gruppe.

Die Agglutination in den Zuckerlösungen wurde an 20 Typhus-, 9 Paratyphus B-, 1 Paratyphus A-, 2 Bac. enterit. Gärtner- und 12 Coli-Stämmen geprüft. Zur Impfung der Zuckerröhrchen wurden einmal Bouillonkulturen, die, um ein möglichst gleichmäßiges Wachstum zu erhalten, von 24 Std. alten Schrägagarröhrchen der einzelnen Stämme immer mit derselben Menge angelegt waren, verwendet. Außerdem wurden Abschwemmungen in Kochsalzlösung und in Aqua dest., und zwar von Malachitgrün-, von Endo-Platten und von Agarschrägröhrchen benutzt. Die Impfdosis aus der Bouillon oder den Abschwemmungen war 0,5 ccm auf 10 ccm Zuckerlösung. Beobachtungsdauer, Art der Prüfung des Ergebnisses waren dieselben wie bei den Diphtherieuntersuchungen angegeben wurde. An Zuckerlösungen wurden 1 Proz., 2 Proz., 5 Proz. und 10 Proz., und, wie bei den Diphtherieuntersuchungen, die schwächeren Verdünnungen von 1,0 bis herab zu 0,02:100 verwendet.

Gute Agglutination aller obengenannten Bakterienarten der Typhus-Coli-Gruppe fand in Dextrose-, Lävulose- und Galaktoselösungen statt; am stärksten im allgemeinen in den Traubenzuckerlösungen, beim Paratyphus auch in den Lävuloselösungen. Keine Agglutination trat in den Saccharoselösungen und schwache in den Maltoselösungen ein. Ferner wurden in den Laktoselösungen nicht agglutiniert: Typhus-, Paratyphusbazillen und Bac. enterit. Gärtner. In den Mannitlösungen war die Zusammenballung der Paratyphusbazillen nur wenig ausgesprochen, während Typhusbazillen, Bac. enterit. Gärtner und Bac. coli gut agglutiniert wurden. Bei der Mehrzahl der geprüften Stämme war die Ausflockung bereits nach 24 Std. bei 37° voll ausgesprochen und der endgültige Wasserstoffexponent erreicht, eine gewisse Verzögerung hierin machte sich bei einer Anzahl Coli-Stämme bemerkbar. Ferner war hinsichtlich der Art der Ausflockung meist ein Unterschied zwischen den Typhus- und den Coli-Stämmen zu bemerken. Die ersteren wurden in feinen Flocken wie bei der Agglutination durch Immunserum zusammengeballt, während in den Röhrchen mit agglutinierten Coli-Bazillen neben feinen sich vorwiegend gröbere Flocken fanden. Der Wasserstoffexponent bei stärkster Agglutination war für die Bazillenarten der Typhus-Coli-Gruppe keine allen oder auch nur den einzelnen Arten gemeinsame bestimmte Zahl; zwischen den einzelnen Typhusstämmen fanden sich hier ebenso Abweichungen wie für die Paratyphus- und Coli-Stämme. Der Wasserstoffexponent betrug bei stärkster Ausflockung in den

1) Ztschr. f. Immunitätsf. Orig. Bd. 12. S. 305.

mit Typhusbazillen geimpften und durch deren Säurebildung zersetzten Zuckerröhrchen im Durchschnitt $P_H = 4,5—4,7$, in den Paratyphusbazillenröhrchen meist ebenso, doch fanden sich bei diesen auch etwas niedrigere Werte ($P_H = 4,3—4,4$), in den Röhrchen mit Bac. enterit. Gärtner betrug der Wasserstoffexponent im Durchschnitt: $P_H = 4,4$ und in den Röhrchen mit Bact. coli war $P_H = 4,3—4,4$. Zusammengefaßt ergab sich also für die Typhus-Coli-Gruppe ebenso wie bei der Diphtheriebazillengruppe für den Wasserstoffexponenten auf der Höhe der Agglutination eine gewisse Breite, die bei der Typhus-Coli-Gruppe im ganzen tiefer lag ($P_H = 4,3$ bis 4,7; Mittelwert etwa 4,5) als bei der Diphtheriegruppe ($P_H = 4,6$ bis 5,3; Mittelwert etwa 4,9). Demgegenüber werden als Agglutinationsoptima für die künstliche Säureagglutination der Typhus-Coli-Gruppe Wasserstoffzahlen angegeben, die folgenden Wasserstoffexponenten entsprechen: für Typhusbazillen von Michaelis[1]) und von Beniasch[2]) $P_H = 4,39$, von Gieszczykiewicz[3]) $P_H = 4,15$, von Arkwight[4]) $P_H = 4,4$, für Paratyphusbazillen, Bac. enteritidis Gärtner und Bact. coli von Michaelis, Beniasch und Gieszczykiewicz im ganzen übereinstimmend: $P_H = 3,85$ bis 3,55.

Bei der Typhus-Coli-Gruppe ergab sich also für die biologische Säureagglutination im allgemeinen ebenfalls ein höherer Wasserstoffexponent als für die künstliche Säureagglutination. Nach unseren Ergebnissen ist dieser Unterschied für die Paratyphusbazillen, Bac. enteritidis Gärtner und Bacterium coli ebenso ausgesprochen wie für die Diphtherie- und Pseudodiphtheriebazillen. Für den Typhusbazillus ist dagegen die Differenz zwischen den Wasserstoffexponenten der beiden Säureagglutinationen erheblich geringer ($P_H = 4,5$ und $P_H = 4,4$). Wenn auch der Wasserstoffexponent bei der biologischen Säureagglutination mit den von uns geprüften Typhusstämmen niemals bis 4,4 herunterging, so erscheint es trotzdem nicht unwahrscheinlich, daß es Typhusstämme gibt, bei denen der Wasserstoffexponent der biologischen Säureagglutination sich mit dem bei der künstlichen Säureagglutination ($P_H = 4,4$) decken kann.

Zu bemerken ist noch, daß bei den einzelnen geprüften Stämmen der Typhus-Coli-Gruppe der Wasserstoffexponent (P_H) nicht gleichmäßig hoch für die verschiedenen Zuckerarten gefunden wurde. Auch hier traten Unterschiede hervor; so war z. B. in den makroskopisch gleich verfärbt und ausgeflockt erscheinenden, mit demselben Bazillus gleichmäßig geimpften Dextrose- und Lävuloseröhrchen P_H auf der Höhe der Ausflockung deutlich unterschieden: 4,5 und 4,7.

Weitere Versuche haben gezeigt, daß die Höhe des Wasserstoffexponenten ($P_H = 6,7$ bis 7,8) in den ungeimpften Zuckerlösungen keinen Einfluß auf den Verlauf der Reaktion, die Stärke der Ausflockung und die Wasserstoffionenzahl auf der Höhe der Agglutination hatte.

Desgleichen wurde durch Versuche festgestellt, daß durch Erhöhung und Erniedrigung der zur Impfung der Zuckerröhrchen

1) Dtsch. med. Woch. 1911. S. 970.
2) Ztschr. f. Immunitätsf. Orig. Bd. 12. S. 286.
3) Ebenda. Orig. Bd. 24. S. 497.
4) Ebenda. Orig. Bd. 22. S. 403.

verwendeten Menge Bazillenabschwemmungen oder Bouillonkultur — es wurden Mengen von 0,1—0,3—0,5—0,6—0,8—1,0—1,5 und 2,0 ccm zur Impfung der Zuckerröhrchen benutzt — ein nennenswerter Unterschied in der Schnelligkeit des Eintritts und des Ablaufs der Reaktion, in der Säurebildung und der Stärke der Agglutination im allgemeinen nicht eintrat, nur in den Röhrchen mit größeren Kulturmengen (0,8—2,0 ccm) schien die Agglutination nicht ganz die Stärke zu erreichen wie in den mit den geringeren Mengen geimpften Zuckerröhrchen. Eine Erhöhung der Zuckermenge in den Lösungen auf 5 und 10:100 hatte keine Aenderung für Eintritt, Stärke der Agglutination und die Wasserstoffionenkonzentration zur Folge. Anders gestalteten sich die Ergebnisse bei den Versuchen darüber, welche geringsten Zuckermengen in den Lösungen noch von den Bakterien der Typhus-Coli-Gruppe so zersetzt wurden, daß eine Agglutination dieser durch die dabei gebildete Säure herbeigeführt wurde. Verwendet wurden hierzu Traubenzuckerlösungen, welche abgestuft 1,0 bis 0,02:100 Dextrose nebst Pepton 1,0 — Kochsalz 0,5 und Lackmuslösung 5,0 enthielten und deren $P_H = 7{,}6$ war. Es zeigte sich, daß von den geprüften Stämmen der Typhus-Coli-Gruppe die Typhusbazillen noch in einer 0,2 Dextrose auf 100 Aq. dest. enthaltenden Lösung (1:500) stark agglutiniert wurden, während die beiden Paratyphusarten, Bac. enteritidis Gärtner und Bact. coli bei dieser geringen Zuckermenge nicht mehr ausgeflockt wurden, sondern bei ihnen nur noch in der Lösung mit 0,5 Zucker (1:200) ausgesprochene Zusammenballung eintrat. Es ergab sich also bei unseren Stämmen die nicht ohne weiteres von vornherein zu erwartende Tatsache, daß die Typhusbazillenstämme geringe Mengen Traubenzucker in weiterem Maße zersetzten, stärker versäuerten als die übrigen von uns geprüften Angehörigen der Typhus-Coli-Gruppe.

Im einzelnen sei hierzu noch folgendes bemerkt: In den mit Abschwemmungen und in den mit Bouillonkultur verschiedener Typhusstämme geimpften Röhrchen mit 0,5 Dextrose auf 100 (1:200) war $P_H = 4{,}6$, in dem Röhrchen mit 0,2:100 (1:500) war $P_H = 4{,}7$. In der nächsten Verdünnung 0,1:100 (1:1000) war $P_H = 6{,}1$. Hier war makroskopisch nur noch bei einigen Typhusstämmen schwache Agglutination wahrzunehmen, mikroskopisch zeigten sich bei diesen neben freibeweglichen Stäbchen wenige Bazillenhäufchen, während die Dextroselösung nicht mehr ausgesprochen rot verfärbt war, sondern noch bläulich mit einem Schein von Rotfärbung erschien. Es war also auch in den Röhrchen mit der geringen Zuckermenge von 0,1:100 zur Zersetzung des Zuckers durch die eingeimpften Typhusbazillen gekommen, doch war die erzeugte Säuremenge bezw. Wasserstoffionenkonzentration nicht mehr so stark, P_H nur noch $= 6{,}1$, um eine stärkere Ausflockung der Bazillen herbeizuführen. In den weiteren Verdünnungen, 0,05:100 und 0,02:100 war dann die für die Bazillen angriffsfähige Zuckermenge und die selbstgeschaffene Säuremenge so gering, daß die Zersetzung des Zuckers durch die Bazillen nach außen hin durch eine deutliche Farbenveränderung und durch Ausflockung der eingeimpften Bazillen nicht mehr wahrnehmbar wurde, sondern die Zuckerzersetzende Lebenstätigkeit der Bazillen in den Röhrchen mit 0,05:100 nur noch durch die Feststellung der Herabsetzung des Wasserstoffexponenten $P_H = 7{,}6$ der ungeimpften Zuckerlösung auf $P_H = 6{,}8$ nach-

zuweisen gewesen war, während in den Röhrchen mit 0,02:100 keinerlei Farbenveränderung sich mehr zeigte und der Wasserstoffexponent ebenfalls unverändert geblieben war.

Eine Versuchsreihe mit den Bazillen des Typhus-Coli-Gruppe in 2proz. Traubenzuckerlösung wurde nur bei Zimmertemperatur gehalten. Auch bei Zimmertemperatur trat in der Traubenzuckerlösung Ausflockung und Säurebildung ein, allerdings viel langsamer und auch schwächer als in der gleichzeitig bei 37° gehaltenen parallelen Versuchsreihe.

Die aus den Versuchsröhrchen mit den verschiedenen Zuckerlösungen und den agglutinierten Bazillen der Typhus-Coli-Gruppe angelegten Kulturen (Malachitgrün- und Endo-Platten) zeigten hinsichtlich des Wachstums nicht das gleiche Verhalten: die nach 24 bis 48 Stunden aus den Säurebildung und ausgesprochene Agglutination aufweisenden Zuckerlösungen angelegten Malachitgrün- und Endo-Platten wiesen regelmäßig Kolonien der Bazillen der Typhus-Coli-Gruppe auf. Ein Unterschied im Wachstum der immer mit derselben Menge angelegten Platten trat aber hier schon insofern hervor, als bei einer Anzahl Typhusstämme nach 48 Std. sowohl im Vergleich mit dem Wachstum der anderen Bakterienstämme, als auch im Vergleich mit dem eigenen nach 24 Std. die Zahl der Kolonien deutlich abgenommen hatte. Die von uns geprüften Typhusbazillen waren danach unter den Bakterien der Typhus-Coli-Gruppe die empfindlichsten gegen die selbsterzeugte Säure. Dies bewiesen weiter die am 3. Tage angelegten Nährbodenplatten. Auf diesen war öfter kein Wachstum der Typhusbazillen mehr festzustellen. Doch war das Aufhören der Entwicklungsfähigkeit dieser Typhusbazillen bei Uebertragungen am 3. Tage noch ein schwankendes. Es kam vor, daß derselbe Stamm bei einer Wiederholung des Versuchs nach 3 Tagen auf den angelegten Platten gewachsen war. Bei den Ueberimpfungen an den folgenden Tagen blieben jedoch die Typhusbazillen-Kulturen steril. Von den übrigen zur Typhus-Coli-Gruppe gehörenden Bazillen war auf den mit Bact. coli geimpften Platten vereinzelt noch am 10. Tage Wachstum festzustellen gewesen, etwas häufiger zeigten sich bis zu dieser Zeit unsere aus den sauren Lösungen entnommenen agglutinierten Paratyphusbazillen und der Bac. enteritidis Gärtner entwicklungsfähig. Ueber den 10. Tag hinaus war aber auch bei diesen Stämmen kein Wachstum mehr wahrzunehmen.

3. Ruhrbazillen.

Im ganzen wurden 16 Ruhrbazillenstämme (4 Bac. Shiga-Kruse-, 4 Flexner- und 8 Y-Stämme) auf etwaige Agglutination in den verschiedenen Zuckerlösungen geprüft.

Die Zuckerlösungen waren dieselben wie bei den Untersuchungen mit Diphtheriebazillen und den Bazillen der Typhus-Coli-Gruppe. Es wurden 0,2proz. 0,5proz., 1proz., 2proz., und 5proz. Lösungen der verschiedenen Zuckerarten, zu 10 ccm in Reagenzröhrchen abgefüllt, benutzt. Zur Impfung der 0,2proz., 0,5proz., 1proz. und 2proz. Lösungen sind je 0,5 ccm 24 Std. alter gleichmäßig gewachsener Bouillonkulturen der Ruhrstämme verwendet worden.

Die Ausflockung der 3 Ruhrbazillenarten erfolgte im allgemeinen langsamer und war im ganzen schwächer als

bei den Bazillen der Typhus-Coli-Gruppe und den Diphtheriebazillen. Erst nach 3 Tagen bei 37° konnte die Agglutination als stark bezeichnet werden. Eine weitere Zunahme war an den folgenden Beobachtungstagen nicht mehr festzustellen. Zur Prüfung, ob dieser Ausfall der Agglutination etwa durch verschiedene Arten der Herstellung des Impfmaterials geändert werden könnte, wurden bei den Versuchen, mit 5proz. Zuckerlösungen von den verschiedenen Ruhrstämmen Bouillonkulturen, Abschwemmungen von Agarröhrchen mit Kochsalzlösung, solche mit Aq. dest. und direkte Abimpfung von Endo-Platten nebeneinander verwendet. Der Ausfall dieser Versuche ergab keine Aenderung des Ergebnisses, insbesondere wurde durch die Impfung der Zuckerröhrchen mit Aq. dest.-Abschwemmungen keine stärkere Zusammenballung und kein schnellerer Ablauf der Reaktion erblickt als bei Verwendung von Ruhrbazillenabschmemmungen in Kochsalzlösung oder bei Impfung mit Bouillon- oder Endo-Agarkulturen. Nach den Untersuchungen von Beniasch[1]) verhielten sich die Ruhrbazillen bei der künstlichen Säureagglutination vollständig negativ. Sgalitzer[2]) fand von 32 Dysenteriestämmen 5 (2 Shiga-Kruse-, 1 Y- und 2 Strong-Stämme) durch Essigsäure agglutinabel, von seinen Flexner-Stämmen wurde keiner agglutiniert. Die Ruhrbazillen scheinen danach nicht nur in künstlichen Säurelösungen schwer ausflockbar, sondern nach unseren Erfahrungen auch durch die von ihnen selbst in Zuckerlösungen geschaffene Säure schwerer agglutinabel zu sein als andere Bakterien unter den gleichen Bedingungen. Von den 3 geprüften Arten Ruhrbazillen erschien der Shiga-Kruse-Bazillus schwerer agglutinabel als die beiden Pseudoruhrbazillen, die unter sich hierin keinen Unterschied erkennen ließen. Die Shiga-Kruse-Stämme wurden in den Röhrchen mit Dextrose und Lävulose agglutiniert, in allen anderen Zuckerlösungen (Galaktose ist nicht geprüft worden) gab es keine Ausflockung.

Der Flexner-Bazillus und der Bac. Y, alle Stämme waren ältere Laboratoriumskulturen, zeigten hinsichtlich der Zuckerarten und der Agglutination ziemliche Uebereinstimmung. Auch in den Maltoseröhrchen aller Verdünnungen fand eine Zusammenballung beider Arten statt, die bei den Flexner-Stämmen ein wenig stärker war als bei den Y-Stämmen, während eine Flexnerkultur in den Mannitlösungen schwächer agglutiniert wurde. Im übrigen wurden beide Ruhrbazillenarten in den Dextrose-, Lävulose-, Mannit- und Galaktoselösungen gleichmäßig stark agglutiniert, nicht ausgeflockt aber in den Saccharose- und Laktoselösungen.

Bei den Ruhrbazillen war der Wasserstoffexponent der ungeimpften Zuckerlösungen gleichfalls ohne Belang für die Wasserstoffionenkonzentration in den nachher stärkst agglutinierten Röhrchen. Der Wasserstoffexponent bei stärkster Ausflockung betrug in den mit Bac. Shiga-Kruse geimpften Röhrchen durchschnittlich $P_H = 4,7—5,0$, in den Flexnerröhrchen $P_H = 4,5—5,1$ und für die Y-Stämme durchschnittlich $P_H = 4,5—5,2$. Bei der Säureagglutination durch Essigsäure fand Sgalitzer (s. o.) für den Shiga-Bazillus $P_H = 4,74—4,14$, für den Y-Bazillus als Optimum $P_H = 4,74$. Der Unterschied in der Höhe der Wasserstoff-

1) Ztschr. f. Immunitätsf. Orig. Bd. 12. S. 297.
2) Ztschr. f. Hyg. Bd. 76. S. 217 u. 222.

ionenkonzentrationen bei stärkster Ausflockung beider Arten der Säureagglutination ist demnach bei den beiden Ruhrbazillen, Shiga-Kruse und Y, nicht sehr groß; ja wir haben hier zum Teil übereinstimmende Werte. Es besteht hier eine gewisse Aehnlichkeit mit dem Verhalten der Typhusbazillenstämme (s. S. 453).

Der für die einzelnen Kulturen der Ruhrbazillen bei den verschiedenen Zuckerarten gefundene Wasserstoffexponent war innerhalb derselben Versuchsreihe nicht immer identisch oder annähernd gleich. So war z. B. bei einem Y-Stamm in der Dextroselösung $P_H = 4{,}5$, in der Galaktoselösung derselben Versuchsreihe: $P_H = 5{,}0$. Bei den meisten Stämmen war der Wasserstoffexponent (P_H) in den Dextroseröhrchen am niedrigsten.

Für die Versuche zur Feststellung, ob die agglutinierten Ruhrbazillen entwicklungsfähig bleiben, bezw. wie lange, wurden an den einzelnen Tagen Uebertragungen auf Endo-Platten vorgenommen. Alle 3 Arten zeigten nach 2 Tagen noch ein gutes, reichliches Wachstum. Nach 3 Tagen blieben sie mit den agglutinierten Shiga-Kruse-Bazillen beimpften Platten in der überwiegenden Mehrzahl und bei Uebertragung am 5. Tage alle steril. Die Flexner- und Y-Platten ließen bei einzelnen Stämmen nach 3 Tagen eine Verminderung der Kolonienzahl erkennen, doch war bei den meisten Y-Stämmen am 6. Tage, bei den Flexner-Stämmen im allgemeinen am 9. und bei einem unserer Stämme sogar noch am 11. Tage Wachstum festzustellen.

4. Kokken.

Geprüft wurden: 6 Staphylokokken-, 6 Streptokokken-, 8 Meningokokken-Stämme, 1 Pneumokokkenstamm und ein Micrococcus catarrhalis-Stamm.

Die Versuchsanordnung war dieselbe wie bei den vorhergehenden Untersuchungen. Die Lösungen der verschiedenen Zuckerarten waren 0,2proz., 0,5proz., 1proz., 2proz. und 5proz. und für die Meningokokken noch 10proz. Zu ihrer Impfung wurden neben Bouillonkulturen Abschwemmungen in physiologischer Kochsalzlösung, in einigen Versuchen auch solche mit Aq. dest. benutzt, ferner auch bestimmte Kulturmengen direkt in die Lösungen verrieben. Impfmaterial, in dem eine spontane ZZusammenballung der einen oder anderen Kokkenart eingetreten war, wurde nicht verwendet. So konnten des öfteren Bouillonkulturen nicht benutzt werden, während bei langsamer nacheinander mit kleinen Mengen Kochsalzlösung vorgenommener Abschwemmung spontane Agglutination nur selten vorkam.

Durch die verschieden hohen Konzentrationen der Zukkerlösungen wurde nur bei den untersuchten Streptokokkenstämmen ein Unterschied in dem Ergebnis herbeigeführt (siehe später), bei den übrigen Kokkenarten waren sie ohne Einfluß auf den Ausfall der Reaktion.

Die Verwendung von mit Aq. dest. hergestellten Abschwemmungen vermochte auch bei den verschiedenen Kokken keine stärkere oder schnellere Ausflockung zu bewirken, als die anderen zur Impfung benutzten Methoden.

Die geprüften 6 Staphylokokken-Stämme, 5 Aureus- und 1 Albus-Stamm, wurden in allen verwendeten Zuckerlösungen agglutiniert, gut in Dextrose-, Maltose-, Lävulose-, schwächer in

Saccharose- und Laktose- und am schwächsten in Mannitlösungen. Der Wasserstoffexponent zeigte auf der Höhe der Agglutination weder zwischen den einzelnen Stämmen, noch bei diesen wieder zwischen den einzelnen Zuckerarten, mit Ausnahme der Mannitlösungen ($P_H = 6{,}6$), erhebliche Abweichungen, er betrug im Durchschnitt in den übrigen Zuckerlösungen: $P_H = 4{,}5-4{,}8$. Bei der künstlichen Säureagglutination[1]) ist der optimale Wasserstoffexponent für die Staphylokokken $P_H = 2{,}3-2{,}6$, also wiederum erheblich niedriger als bei der biologischen Säureagglutination.

Bei Uebertragungen der agglutinierten Staphylokokken aus den gesäuerten Zuckerlösungen auf frische Agarplatten erwiesen sich die meisten Stämme gegen die selbsterzeugte Säure sehr widerstandsfähig. Einige wuchsen bis zu 22 Tagen auf den neuangelegten Platten mit reichlichen Kolonien, allerdings zeigten sich innerhalb der einzelnen Stämme ziemlich erhebliche Unregelmäßigkeiten und Schwankungen den verschiedenen Zuckerarten gegenüber.

Das Ergebnis der Agglutinationsprüfung in den einzelnen Zuckerarten mit dem Pneumokokkenstamm stand den soeben mitgeteilten Befunden der Staphylokokkenstämme nahe. Er wurde gut in Dextrose-, Maltose- und Lävulose-Lösungen, schwächer in Laktose-, am schwächsten in Mannit-Lösungen aber nicht in Saccharose-Lösungen agglutiniert.

Der Wasserstoffexponent betrug im Durchschnitt in den erstgenannten 3 Zuckerlösungen $P_H = 4{,}3-4{,}5$, in den Laktoselösungen $P_H = 4{,}7$, in den Mannitlösungen $P_H = 6{,}7$. Für die künstliche Säureagglutination der Pneumokokken gibt Beniasch[2]) ein Optimum an, entsprechend dem Wasserstoffexponenten $P_H = 3{,}5-3{,}2$. Der bei stärkster Agglutination gefundene Wasserstoffexponent war also auch hier bei der künstlichen Säureagglutination erheblich niedriger als bei der biologischen.

Bei unserem Pneumokokkenstamm war bei Ueberimpfung der agglutinierten Kokken bis zu 8 Tagen Wachstum zu beobachten, allerdings nicht gleichmäßig bei allen Zuckerarten.

Im gewissen Gegensatz zu den Ergebnissen der biologischen Säureagglutination der Staphylokokken und des Pneumococcus standen die bei der Agglutinationsprüfung der Streptokokken in Zuckerlösungen erhobenen Befunde. Die von uns untersuchten Streptokokkenstämme wurden erheblich schwerer ausgeflockt als die Staphylokokken und der Pneumokokkenstamm, am stärksten noch in den Maltoselösungen ($P_H = 5{,}3-5{,}6$), nicht in den Saccharose- und Dextroselösungen, noch schwächer und unregelmäßig in den Laktoselösungen ($P_H = 5{,}3-5{,}6$), nichts in den Saccharose- und Mannitlösungen. Es trat ferner bei den Streptokokken die bereits bei den Pseudodiphtherien (S. 451) erwähnte Erscheinung zutage, daß stärker konzentrierte 5 proz. Zuckerlösungen (Dextrose-, Maltose- und Lävuloselösungen) stärker gesäuert wurden, deutlichere Agglutination aufwiesen und einen niedrigeren Wasserstoffexponenten hatten als die mit demselben Streptokokkenstamm unter gleichen Bedingungen geimpften, schwächeren 2proz. Zuckerlösungen. Dieses Verhalten der

1) Ztschr. f. Immunitätsf. Orig. Bd. 12. S. 308.
2) Ztschr. f. Immunitätsf. Orig. Bd. 12. S. 309.

Streptokokken bei der biologischen Säureagglutination stimmt mit den bei der künstlichen Säureagglutination gemachten Beobachtungen insofern überein, als nach Beniasch[1]) der Streptococcus sich durch eine größere Widerstandsfähigkeit den Säuren gegenüber auszeichnet als der Staphylococcus, während der Wasserstoffexponent der künstlichen Säureagglutination für beide Mikrobenarten der gleiche ist. In letzterer Beziehung besteht allerdings nach unseren Untersuchungen ein Unterschied zwischen den Streptokokken und Staphylokokken. Der Wasserstoffexponent der biologischen Säureagglutinationen war bei unseren Streptokokkenstämmen höher ($P_H = 4,8—5,3$) als bei unseren Staphylokokkenstämmen ($P_H = 4,5$ bis $4,8$) und dem Pneumokokkenstamme ($P_H = 4,3—4,5$), und demgemäß bei den 3 Arten wieder höher als der der entsprechenden künstlichen Säureagglutination. Die weitere Prüfung, ob dieses verschiedene Verhalten von Streptokokken, Pneumokokken und Staphylokoen bei der biobiologischen Säureagglutination sich möglicherweise zu einer Differenzierung, insbesondere der Pneumokokken und Streptokokken, verwerten ließe, wurde nicht vorgenommen, da es zunächst nur darauf ankam, das Verhalten der verschiedenen Bakterien in Zuckerlösungen unter den gleichen Bedingungen zu untersuchen, und da der Ausbau der Ergebnisse zur Lösung differentialdiagnostischer Fragen zu weit über dieses erste Ziel hinausgegangen wäre.

Die Versuche, ob die geprüften Streptokokkenstämme durch die Agglutination in den Zuckerlösungen entwicklungsfähig werden, zeigten eine erhebliche Widerstandskraft der Streptokokken gegen die selbstgebildete Säure; so war bei einem Stamm noch Wachstum der am 12. Tage der sauren Lösung entnommenen und auf frischen Nährboden übertragenen, agglutinierten Streptokokken festzustellen gewesen.

So gut wie gänzlich negativ fielen die Versuche mit den Meningokokkenstämmen und dem Micrococcus catarrhalis aus. Unter den gewählten Bedingungen, bei der von uns angewandten Zusammensetzung der Zuckerlösungen, fand in diesen — gleichgültig, ob sie 1 Proz., 2 Proz., 5 Proz. oder 10 Proz. der verschiedenen Zuckerarten enthielten, gleichgültig, wie hoch ihr Wasserstoffexponent war ($P_H = 6,5—7,8$), gleichgültig, mit welchem Material (Bouillon, Ascites-Bouillon, Abschwemmungen mit physiol. Kochsalzlösung oder mit Aq. dest., Einreiben bestimmter Kulturmenge von festen Nährböden) die Impfung vorgenommen wurde — keine nennenswerte Säuerung der Zuckerlösungen und keine deutliche Agglutination der Meningokokken und des Micrococcus catarrhalis in ihnen statt. Nur in 2proz. Traubenzucker- und Maltoselösung war bei 5 Meningokokkenstämmen eine schwache Agglutination und geringe Säuerung ($P_H = 5,2—5,3$) nach 48 Std. bei 37° festzustellen, die aber bei 5tägiger Beobachtung keine Zunahme zeigten. Die benutzten Zuckerlösungen boten offenbar wohl in dieser Zusammensetzung den an den Nährböden anspruchsvollen Meningokokken zu wenig Nährstoff, um sich gut weiterentwickeln und durch Zersetzung des Zuckers die zu ihrer Ausflockung notwendige Säure bzw. Wasserstoffionenkonzentration erzeugen zu können. Wei-

1) Ztschr. f. Immunitätsf. Orig. Bd. 12. S. 309.

teren Versuchen muß es vorbehalten bleiben, zu prüfen, ob andere Meningokokken- und Micrococcus catarrhalis-Stämme sich in der gleichen Weise verhalten wie unsere 8 Stämme, und alsdann darauf gerichtet sein, eine für die Meningokokken und die ihnen nahestehenden Kokken für diesen Zweck geeignete Zusammensetzung der Zuckerlösungen zu finden.

II.

Im ersten Teil ist wiederholt auf die Verschiedenheiten zwischen biologischer und künstlicher Säureagglutination hingewiesen worden. Diese Feststellungen und damit im Zusammenhang stehende Erwägungen, daß im Gegensatz zur künstlichen Säureagglutination, sowohl bei der biologischen Säureagglutination als auch bei der Serumagglutination, Lebensäußerungen der Bakterien (Säure- und Agglutininbildung) eine ausschlaggebende Rolle spielen, führten dazu, in den zwischen beiden Säureagglutinationen abweichenden Punkten Vergleiche mit der Serumagglutination vorzunehmen und so zu erkunden, ob etwa Beziehungen zwischen der biologischen Säureagglutination und der Immunagglutination sich feststellen ließen. Gedacht war bei diesen Untersuchungen mit daran, daß möglicherweise ähnlich wie bei der biologischen Säureagglutination die verschiedenen Zucker, so bei der positiven Serumagglutination der im Blut vorhandene Traubenzucker mitwirken könnte. Vielleicht ließe sich auch bei der Serumagglutination eine Aenderung der Wasserstoffionenkonzentration feststellen und durch Bestimmung des Wasserstoffexponenten in dem Blutserum vor und nach dem positiven Ausfall der Agglutination nachweisen.

Um zunächst einmal eine Uebersicht über die Höhe des Wasserstoffexponenten im menschlichen Blutserum zu gewinnen, wurde längere Zeit hindurch der Wasserstoffexponent des Serums der zur Untersuchung eingehenden Blutproben und daneben der einer Anzahl Blutproben von Gesunden geprüft. Die Ergebnisse dieser Untersuchungen zeigten für menschliches Blutserum einen Wasserstoffexponenten zwischen $P_H = 7{,}0$ bis $7{,}7$, im Durchschnitt etwa $P_H = 7{,}3$. Unter den Seris befanden sich völlig klare, hell oder gelblich gefärbte, dann aber auch mehr oder weniger blutige. Es hatte den Anschein, als ob bei den blutigen Seris der Wasserstoffexponent im allgemeinen etwas niedriger wäre als bei den klaren. Die zur Untersuchung eingesandten Blutsera (Blut von Kranken und Krankheitsverdächtigen) und die Sera von Gesunden zeigten keine irgendwie beachtenswerten Unterschiede des Wasserstoffexponenten.

Eine zweite Reihe von Untersuchungen diente zur Feststellung der Wasserstoffexponenten bei positiven und bei negativen Serumagglutinationen. Bei den positiven Agglutinationen — es handelte sich in der überwiegenden Mehrzahl um Widal-Reaktionen mit Serum von Typhuskranken oder Typhusverdächtigen — war gegenüber dem Wasserstoffexponenten des Serums vor der Agglutination und gegenüber dem Wasserstoffexponenten im menschlichen Blutserum überhaupt (s. o.) eine irgendwie nennenswerte Aenderung, ein irgendwie erheblicheres Niedrigerwerden des Wasserstoffexponenten, das man etwa auf die Mitbeteiligung

des Blutzuckers[1]) hätte zurückführen können, nicht festzustellen gewesen. Die Prüfungen der negativ gebliebenen Serumagglutinationen ergaben keinen anderen Wasserstoffexponenten als die positiven Sera, bei beiden Reaktionen war $P_H = 7{,}0$ und darüber. Dieses Ergebnis sprach ebenfalls dafür, daß bei der Serumagglutination im Gegensatz zur biologischen Säureagglutination eine Aenderung der Wasserstoffionenkonzentration keine ausschlaggebende Rolle spielte. Durch die Agglutininbildung im Blut wird eine irgendwie wesentliche Aenderung des Wasserstoffexponenten des Serums nicht herbeigeführt. Hierin besteht ein grundlegender Unterschied zwischen der Serumagglutination und der biologischen Säureagglutination. Die biologische Säureagglutination beruht auf der Aenderung der Wasserstoffionenkonzentration in der Zuckerlösung. Die die Zusammenballung der Bakterien bewirkenden Kräfte sind eben bei der Serumagglutination und der biologischen Säureagglutination nicht die gleichen, trotzdem sowohl das Blutserum als auch die Zuckerlösungen durch Lebensäußerungen der Bakterien (Agglutininbildung — Aenderung der Wasserstoffionenkonzentration) ausflockende Fähigkeiten erhalten und die Bakterien selbst in beiden Fällen agglutinabel werden. Auf Grund unserer Untersuchungen und Versuche können wir somit wohl die biologische Säureagglutination und die Serumagglutination als artverschieden bezeichnen. Die erstere ist den Säureagglutinationen zuzurechnen und erhält nur ihr besonderes Gepräge durch die Herkunft und Entstehung der Säure (vgl. S. 454).

Im Anschluß an die eben gemachten Ausführungen sei noch kurz erwähnt: Die in Serumverdünnungen, in Zuckerlösungen und in künstlichen Säurelösungen agglutinierten Bazillen boten im Dunkelfeld dasselbe Bild: In größeren und kleineren unregelmäßig geformten, hellglänzenden weißen Flecken waren, etwa wie ein Netzwerk angeordnet, dunkle Stäbchen zu sehen, daneben lagen auf sonst gleichmäßig dunklem Untergrunde einzelne dunkle Stäbchen von einer hellen, weißen Zone (Kapsel) umgeben; außerdem sah man noch bewegliche, nur hellweiß erscheinende Stäbchen ohne dunklen strichförmigen Kern und helle Kapsel. Wie diese letzteren stellten sich im Dunkelfeld alle nicht agglutinierten Bazillen dar, z. B. die aus nur mit Kochsalzlösung hergestellten Aufschwemmungen entnommenen.

Mit Giemsa-Lösung gefärbte Ausstriche der aus den Säurelösungen, den Zuckerlösungen und den Serumverdünnungen stammenden agglutinierten Bazillen zeigten wiederum übereinstimmende Bilder, die denen sehr ähnelten, wie sie Löwit[2]) von agglutinierten Bakterien beschrieben und dargestellt hat.

Für die Artverschiedenheit der Säureagglutinationen, insbesondere der biologischen Säureagglutination, und der Serumagglutination sprach ein weiterer Unterschied: In den künstlichen Säuregemischen wurden die Bakterien alsbald abgetötet, bei der biologischen Säureagglutination hielten sich die verschiedenen von uns verwendeten Mikroorganismen eine gewisse Zeit lang entwicklungsfähig, nach unseren Untersuchungen einzelne Arten bis ca. 20 Tage, während die in den Serumverdünnungen zusammenge-

1) Ztschr. f. d. ges. exper. Med. Bd. 31. 1923. S. 13; Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Bd. 75. S. 341 u. 342.

2) Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 34. S. 251.

ballten Bakterien in diesen weit über diese Zeit hinaus wachstumsfähig bleiben. So haben wir z. B. bei Uebertragung der in Serumverdünnungen agglutinierten Bazillen auf frische Nährbodenplatten noch nach 8 Wochen gutes und reichliches Wachstum eintreten sehen. Die bei den beiden Säureagglutinationen so große Verschiedenheit darin, wie lange Zeit die in den sauren Lösungen zusammengeballten Bakterien entwicklungsfähig bleiben, ist wohl mit in der Verschiedenheit der Wasserstoffionenkonzentration bei beiden Säureagglutinationen begründet, die wieder von der verschiedenen Herkunft der Säure bei beiden Arten abhängig ist. Bei beiden Säureagglutinationen werden aber, wenn auch zeitlich unterschieden, die zusammengeballten Bakterien unter den veränderten, die Agglutination bedingenden Zuständen des Mediums abgetötet, während bei der Serumagglutination die Bakterien durch den Vorgang, daß sie in dem Serum agglutiniert wurden, in ihrer Lebens- und Entwicklungsfähigkeit nicht gehemmt werden.

Bei der Wiedergabe der Agglutinationsergebnisse in zuckerhaltigen Lösungen ist mehrfach das von der künstlichen Säureagglutination verschiedene Verhalten der biologischen Säureagglutination bei der Verwendung von Aqua destillata an Stelle von Kochsalzlösung hervorgehoben worden:

Kochsalz ist für die Serumagglutination unentbehrlich für die künstliche Säureagglutinatin ist es störend. Die Säureausflockung gelingt dagegen vortrefflich bei Anwendung von destilliertem Wasser“ [1]). Bei Benutzung von Aq. dest. an Stelle von physiologischer Kochsalzlösung als Aufschwemmungsflüssigkeit für die zur Impfung der Zuckerröhrchen bei der biologischen Säureagglutination verwendeten Bakterienkulturen trat zwar jedesmal Säuerung und Ausflockung ein, ein Stärkerwerden der Agglutination konnte aber durch die Anwendung von Aq. dest. nicht erzielt werden. Nicht ganz selten erschien vielmehr die Reaktion alsdann langsamer und schwächer einzutreten (s. S. 446 u. 455). Diese Beobachtungen führten zu weiteren Versuchen, bei denen in den Zuckerlösungen das Kochsalz vollständig fortgelassen wurde und zur Impfung Aufschwemmungen mit Aq. dest. von durch Waschen salzfrei gemachten Bakterien verwendet wurden, welche, wie Kontrollversuche bewiesen, in salzfreien Serumverdünnungen nicht mehr ausgeflockt wurden. Doch auch in diesen kochsalzfreien Zuckerlösungen trat bei der Impfung mit salzfreien Bakterien Säuerung und Ausflockung genau in derselben Weise ein, wie bei den Agglutinationsversuchen mit Kochsalz. Weitere Kontrollversuche lehrten, daß hier der für die biologische Säureagglutination nicht zu entbehrende Zucker als Ersatz für das fehlende Kochsalz eintrat [Friedberger[1])]. Dies geschah auch bei stark verminderter Konzentration des Zuckers in der Lösung, z. B. in einer nur 0,2:100 Dextrose enthaltenden salzfreien Lösung, die mit salzfreier Typhusbazillenaufschwemmung geimpft worden war.

So war es leider nicht möglich, die nicht unwichtige Frage nach dem Verhalten der Salze zur biologischen Säureagglutination endgültig zu klären.

Zusammenfassung.

1. Die biologische Säureagglutination ist eine besondere Art der Säureagglutination und von der künstlichen Säureagglutination

1) Ztschr. f. Immunitätsf. Orig. Bd. 24. S. 492.

nach Michaelis durch die Herkunft der Säure scharf unterschieden. Sie besteht darin, daß in Lösungen verschiedener Zuckerarten (Dextrose, Lävulose, Galaktose, Maltose, Mannit) durch die Lebenstätigkeit eingeimpfter Bakterien (Diphtheriebazillen, Bakterien der Typhus-Coli-Gruppe, Ruhrbazillen, Staphylokokken, Streptokokken, Pneumokokken) der Zucker zersetzt, Säure gebildet und eine die Agglutination der Bakterien bedingende und auslösende Wasserstoffionenkonzentration herbeigeführt wird. Diese durch ihre eigene Lebenstätigkeit in den Zuckerlösungen selbstgeschaffene Säure bzw. Wasserstoffionenkonzentration ist die Vorbedingung für die Ausflockung der Bakterien, daher die Bezeichnung „biologische Säureagglutination", im Gegensatz zur Agglutination der Bakterien in künstlich hergestellten Säurelösungen.

2. Wie bei der künstlichen Säureagglutination, so ist auch bei der biologischen Säureagglutination die in der Agglutinationsflüssigkeit entstehende Wasserstoffionenkonzentration der ausschlaggebende Faktor für die Bakterienagglutination, während bei der Serumagglutination eine irgendwie nennenswerte Aenderung der Wasserstoffionenkonzentration des Blutserums nicht eintritt und nicht entscheidend ins Gewicht fällt. Biologische Säureagglutination und Serumagglutination sind danach artverschieden.

3. Die zur Ausflockung der Bakterien bei der biologischen Säureagglutination und bei der künstlichen Säureagglutination notwendigen Wasserstoffionenkonzentrationen (Wasserstoffexponenten) sind nicht gleich. Sie weisen bei den beiden Säureagglutinationen unter sich und bei jeder wieder für die verschiedenen Bakterien erhebliche Unterschiede auf. Im allgemeinen ist der Wasserstoffexponent der stärksten Agglutination bei der biologischen Säureagglutination höher als der optimale Wasserstoffexponent bei der künstlichen Säureagglutination der betreffenden Mikroorganismen. Bei der biologischen Säureagglutination reicht zur Ausflockung der Bakterien ein Wasserstoffexponent der gesäuerten Zuckerlösung aus, der in einer künstlichen Säurelösung noch keine Ausflockung desselben Bakteriums herbeigeführt.

4. In künstlichen Säurelösungen sterben die agglutinierten Bakterien alsbald ab, in den biologisch selbstgeschaffenen Säurelösungen halten sich die Mikroorganismen längere Zeit hindurch wachstumsfähig. Die Serumagglutination übt dagegen keine entwicklungshemmende Wirkung auf die agglutinierten Bakterien aus.

---

1) Centralbl. f. Bakt. Bd. 30. H. 8; Bd. 31. S. 109.

Nachdruck verboten.

Untersuchungen über Chloramin-Heyden.

[Aus dem Hygienischen Institut der Universität Halle-Wittenberg (Direktor: Prof. Dr. P. Schmidt).]

Von Dr. **E. Bergin,** Volontärassistenten am Hyg. Institut Halle a. S.

Auf Veranlassung von Herrn Prof. Dr. P. Schmidt, Direktor des Hygienischen Instituts Halle a. S., stellte ich Untersuchungen an betreffs der Desinfektionswirkung des Rein- und Rohchloramins, von dem mir Proben in Pulver- und Tablettenform übergeben wurden. Das Rohchloramin enthält etwa 80 Proz. Chloramin, bezogen auf Reinchloramin-Heyden, im übrigen indifferente anorganische Beimengungen. Die Löslichkeit des Rohchloramins ist ebenso wie die des Reinchloramins bedeutend (über 10 Proz.), wenn auch das Rohchloramin einen geringen ungelösten (aus anorganischen Substanzen bestehenden) Rückstand hinterläßt. Eine 0,6proz. Rohchloraminlösung entspricht demnach in bezug auf die Desinfektionswirkung etwa einer 0,5proz. Reinchloraminlösung.

Als Vergleichsobjekt wurden die Chemikalien Sublimat, Liquor Cresoli saponatur (50proz. Kresol) und Reinkresol = reines Trikresol, ein gereinigtes Gemenge von Meta-, Ortho- und Parakresol genommen.

Zwei Methoden wurden angewandt: 1) Suspensions- und 2) Batistläppchenmethode.

ad 1) Testobjekt: Staphylococcus pyogenes aureus und Bacterium coli. Versuchsanordnung: pro Schrägagarkultur 10 ccm abgekochtes Wasser. Einsaat: 3 Oesen der Bakteriumaufschwemmung in 4 ccm Desinfiziens. Aussaat: 2 Oesen in 10 ccm 3proz. Traubenzuckerbouillon. 14 Tage Brutschrank. Kontrollen. — ad 2) Beimpfung eines 1 qcm großen sterilen Baumwollbatistläppchens mit 3 Oesen wässeriger Bakterienaufschwemmung. 24stünd. Trocknen bei Zimmertemperatur. Menge des Desinficiens 4 ccm. Zur Unschädlichmachung des Desinficiens 20 Min. langes Waschen in schwach alkalischem Wasser bzw. schwacher Schwefelammonlösung bzw. Natriumthiosulfatlösung. Nachkultur: 10 ccm 3proz. Traubenzuckerbouillon. 14 Tage Brutschrank. Kontrollen.

Sublimat: Zeit und Konzentration (2—0,05 Proz.) abgestuft. Ergebnis nach Methode 1: Abtötung von Staph. pyog. aur. durch 0,1proz. und 0,05proz. Lösung in 20 Min., bzw. 2 Std., bei Bact. coli sofort. Nach Methode 2 erwies sich Staph. pyog. aur. und coli resistenter. Staphylokokken wurden durch 2proz. Lösung in $1^1/_2$ Std., durch 1proz. in 2 Std. abgetötet, während in geringerer Konzentration in einer Versuchsreihe die Resistenz so groß war, daß in 0,25proz. Lösung nach 4 Std. noch Wachstum bestand. In den darunter liegenden Konzentrationen (0,1 Proz. bis 0,05 Proz.) erfolgte die Abtötung in 1—2 Std., bei Bact. coli durch 2—0,5 proz. Lösung innerhalb von 30 Min., durch 0,25—0,05proz. Lösung in 2 Std.

Trikresol: Wie v. Gruber (Arch. f. Hyg. Bd. 17) festgestellt hat, tötet eine 1proz. Kresöllösung Aureus-Kokken bereits binnen $^1/_2$ Min., $^1/_2$proz. nach 10—20 Min.; in $^1/_4$proz. Lösung bleiben die Aureus-Keime noch stundenlang am Leben. Zum Zwecke der Des-

infektion werden im allgemeinen Lösungen nicht unter 1 Proz. verwandt, da die Desinfektionswirkung aller Phenole und Phenolpräparate mit der Zunahme ihrer Verdünnung in hohem Maße abnimmt.

Meine Versuche ergaben nach Methode 1 in 1proz. Lösung Abtötung von Staph. pyog. aur. in 5 Min., von Bact. coli in $^1/_2$ Min., in 0,5proz. Lösung in 10 bzw. 5 Min., in 0,25proz. in 1 Std. bzw. 15 Min. In den darunter liegenden Konzentrationen konnte selbst nach stundenlanger Einwirkung keine Abtötung erzielt werden. Die Resultate der Versuche am infizierten Objekt sind folgende: Abtötung der Bact. coli-Keime erfolgte in 2- und 1proz. wässeriger Trikresollösung innerhalb von 10 Min., in 0,5proz. Lösung in 45 Min., in 0,25proz. Lösung in 60—90 Min., in 0,1proz. Lösung in 8—10 Std., während Staph. pyog. aur. von 2proz. Lösung in 5—10 Min., von 1proz. in 30—45 Min. und von 0,5proz. Lösung in 90—120 Min. abgetötet wurde. In den darunter liegenden Konzentrationen keine Abtötung.

Liquor Cresoli saponatus:

Aus den Untersuchungen von Br. Lange (Untersuchungen über den Desinfektionswert von Kresolseifenlösung und wässeriger Kresollösung, Ztschr. f. Hyg. Bd. 94. S. 84) und Hailer (Dtsch. med. Wochenschr. 1921. Nr. 46) geht hervor, daß die Wirkung seifenhaltiger Kresollösungen gegenüber suspendierten Keimen eine stärkere ist, als die rein wässeriger. In den von mir angewandten Konzentrationen ergab eine Verdünnung der offizinellen Kresolseife des D.A.B., diese zu je 1,0, 0,5 und 0,25 Proz. Kresol Abtötung des Staph. pyog. aur. in 5 bzw. 10 bzw. 60 Min., in ähnlicher Weise wie bei Trikresol, während bei 0,1 Proz. Kresolgehalt bei Liq. Cres. sap. eine wesentlich schnellere Abtötung (in 2 Std.) wie bei Trikresol zu bemerken war. Bei Bact. coli erfolgte die Abtötung weit rascher.

Bei meinen Versuchen am infizierten Objekt erwies sich Aureus in 2-, 1- und 0,5proz., Kresol enthaltender Lösung resistenter als in rein wässeriger Kresollösung. Dies entspricht dem von Hailer (Arb. a. d. RGA. 52. S. 670, 1920) gefundenen Resultat, daß seifenhaltige Kresollösungen schwächer auf Keime wirken, die sich an Flächen befinden, als rein wässerige Lösungen von gleichem Kresolgehalt. Während nämlich 1proz. wässerige Kresollösungen Staphylokokken in längstens 50 Min. abgetötet hatten, brauchten die Verdünnungen der Kresolseife bei gleichem Kresolgehalt dazu länger als 195 Min. Etwas bessere Resultate lieferten meine Batistläppchenversuche, deren unregelmäßiger Ausfall, wie auch andere Untersucher festgestellt haben, hervorgehoben werden soll. So ergab eine 2 Proz. Kresol enthaltende Lösung von Liq. Cres. sap. bei Aureus in der einen Versuchsreihe Abtötung nach 30 Min., im anderen Versuch erst in 50 Min., das zweite Mal in 120 Min., bei 0,5proz. in 5—8 Std. Bact. coli wurde bei 2—0,5proz. Kresolgehalt in 20, 45 und 90 Min. abgetötet. In den darunter liegenden Konzentrationen 0,25 bis 0,05 Proz. sehr schlechte Resultate.

Bei einem Vergleich der Suspensions- und Batistläppchenmethode tritt die schnellere Abtötung und bessere Abstufung der Desinfektionswirkung entsprechend der Konzentration im Suspensionsversuch sichtlich zutage.

Chloramin: Wesentlich günstiger als bei Trikresol und Liq. Cres. sapon. fielen die Versuche bei Prüfung der verschiedenen Chlor-

aminpräparate aus. Nach den Versuchsresultaten von Klimmer und Berger (Dtsch. Tierärztl. Woch. 1921. Nr. 40. S. 508), und von W. Trautmann ([Inaug.-Diss.] Berlin 1921) ergab sich, daß der Staph. pyog. aur. in wässerigem Medium durch 0,1proz. Chloraminlösungen und 0,1proz. Sublimatlösung in 60 Min., durch 0,5proz. in 5 Min., durch 1proz. in 3 Min. abgetötet wird. Im eiweißhaltigen Medium (Blutserum und physiol. Kochsalzlösung zu gleichen Teilen) wurden die Staphylokokken nach Klimmer und Berger durch 5proz. Chloraminlösung in 2 Min., durch 1proz. noch nicht in 60 Min. abgetötet. Dagegen tötete eine 4proz. Sublimatlösung die Staphylokokken noch nicht in 120 Min., eine 5proz. Sublimatlösung noch nicht in 60 Min. Das Chloramin zeigte sich also in einem eiweißhaltigen Medium dem Sublimat überlegen, in wässerigem Medium ebenbürtig.

Bei Verwendung der Suspensionsmethode wurde in meinen Versuchen Staph. pyog. aur. durch 0,1proz. Lösung in 10 Min., durch 0,05proz. in 20 Min., Coli sofort bzw. in 3 Min., abgetötet. Im Vergleich zu Sublimat erwies sich Chloramin auch in den Versuchen am infizierten Objekt nicht schlechter. Auch 0,1—0,05proz. Lösungen entfalteten gute Wirksamkeit (Abtötung in 1—2 Std.).

Im Anschluß an die Versuche mit wässeriger Chloraminlösung wurde die Abtötung von Staph. pyog. aur. bei Gegenwart von 50 Proz. Pferdeserum geprüft. Es ergab sich, daß bei Serumzusatz die Konzentration um etwa das 10fache erhöht werden mußte, um Abtötung in derselben Zeit zu erzielen. Um die Frage bezüglich der Eignung des Chloramins zur Hände-, Stuhl- und Fußbodendesinfektion zu klären, wurden diesbezügliche Versuche unternommen.

Händedesinfektion:

In seiner Arbeit über Chloramin-Heyden als Desinfektionsmittel prüfte H. Dold (Münch. med. Woch. 1921. Nr. 14. S. 431) das Chloramin-Heyden auf seine Verwendbarkeit zur Händedesinfektion und fand eine sehr starke Keimverminderung bei Bearbeitung der Hände mit $^1/_4$—$^1/_2$proz. wässeriger Chloraminlösung. Auch Seligmann und F. Ditthorn (Klin. Woch. 1923. Nr. 50. S. 2283) bezeichnen eine 0,5proz. Chloraminlösung für Zwecke der hygienischen Händedesinfektion als hinreichend. 2 Min. langes Spülen in 0,5proz. Chloraminlösung brachte alle Keime zum Absterben. Für Zwecke der Händedesinfektion empfahl Dobbertin folgende Methode: 5 Min. langes Bürsten der Hände und Vorderarme in üblicher Weise mit Seife in heißem fließenden Wasser, darauf Bearbeiten der Hände mit der Bürste weitere 5 Min. lang in $^1/_2$proz. kalter wässeriger Lösung von Chloramin-Heyden.

Von mir wurde die Prüfung vorgenommen an der Taghand und an der mit Coli infizierten Hand, und zwar zu derselben Zeit an verschiedenen Tagen. Die Hände wurden mit Chloraminseife, Natronseife und Rein- und Rohchloraminlösungen von verschiedenem Prozentgehalt gewaschen.

I. Prüfung der Taghand.

Als Kontrolle wurden beide Hände in sterilem Becken mit Wasserleitungswasser 10 Min. gewaschen. Von diesem Ablaufwasser wurden drei Tropfen mit flüssiger Gelatine zur Platte verarbeitet. Darauf wurden die Hände mit phys. NaCl-Lösung bzw. mit Na-thiosulfat-

lösung bei Chloraminuntersuchungen übergossen, mit Glasspatel abgerieben (Abreibewasser) und in ähnlicher Weise wie vorher eine Platte gegossen. Bei einem 2. Versuch wurden die Hände mit Na-Seife und Wasserleitungswasser gewaschen, bei einem 3. mit Chloraminseife bzw. -lösung. Sonst wurde in der angegebenen Weise verfahren.

II. Prüfung der mit Coli infizierten Hand.

Versuchsanordnung war dieselbe. Nur wurde das zum Waschen bestimmte Wasser mit einer entsprechenden Menge Bact. coli-Kultur beschickt. Das Wasser wurde auf Endo-Platten verarbeitet. Als Resultat der Versuche ergab sich der größte Keimgehalt im Ablaufwasser, während im Abreibewasser eine Verminderung des Keimgehaltes zu bemerken war. In den Versuchen, in denen Chloramin zur Verwendung kam, ergab sich im Vergleich zur Prüfung mit Seife eine erhebliche Verminderung der Keime sowohl im Ablauf- wie im Abreibewasser. Bei Verwendung von Chloramin als Seife und als Pulver vergrößerte sich die Keimzahl etwas, nachdem durch Waschen mit Na-thiosulfat in entsprechender Konzentration das Desinfiziens, das sonst in den Nährboden mitverimpft wird und die Keime am Auswachsen hindert, unwirksam gemacht war.

Nach meinen Ergebnissen erwies sich eine 0,25—0,5proz. Chloraminlösung in der Händedesinfektion als ausreichend. Bezüglich der Chloraminseife (5 Proz. Chloramingehalt) sei bemerkt, daß entsprechend ihrem Gehalt an Chloramin die desinfizierende Kraft etwas größer war, als bei den oben zur Händedesinfektion verwandten Chloraminlösungen. Das Präparat wurde nach mehrere Monate langem Lagern mehrmals geprüft, und es ergab sich keine Verschlechterung der desinfizierenden Kraft. Nach Waschen mit Chloraminseife haftet der Haut Chlorgeruch an, der nach Waschen mit Na-thiosulfat wieder verschwindet.

Stuhldesinfektion:

Bei mit Typhusbazillen infizierten Stühlen konnten Seligmann und Ditthorn (Klin. Woch. 1923. Nr. 50. S. 2283) mit 2proz. Chloraminlösungen schon nach wenigen Minuten starke bakterizide Wirkungen nachweisen. Für praktische Zwecke empfehlen sie eine Einwirkungszeit von 2 Std.

Bei meinen Versuchen, die mit 0,5proz. Rohchloraminlösung bei Verwendung von Ty- und Paratyphusstuhl, bzw. von mit Ty-Bazillen infiziertem Stuhl unter gleichzeitigem Anlegen der nötigen Kontrollen angelegt wurden, erwies sich 0,5proz. Rohchloraminlösung von kräftiger Einwirkung auf die Stuhlflora, insbesondere auch auf den Ty-Bazillus, der in kürzester Zeit abgetötet wurde. Hervorgehoben soll werden, daß nur eine dünne Stuhlaufschwemmung zur Verwendung kam. Auf Grund der Resultate ist eine 1proz. Chloraminlösung zur Stuhldesinfektion empfehlenswert. Mit geformtem Stuhl wurden keine Versuche angestellt. Das Ergebnis ist vermutlich schlechter, da Chloramin, ebenso wie Sublimat, Trikresol und Liquor Cresoli saponatus, keine kotballenlösende Wirkung aufzuweisen hat, die nur Chlorkalkmilch in stärkerer Konzentration zukommt.

Fußbodendesinfektion:

Versuche, die mit Chloramin-Heyden ausgeführt wurden, und zwar in der Dresdener Städt. Desinfektionsanstalt, führten zu dem Ergebnis, daß Chloramin-Heyden bzw. Rohchloramin-H. an Stelle der bisher üblichen Großdesinfektionsmittel zur Raum- und Sachenentseu-

chung von den Medizinalbehörden eingeführt wurde mit der Vorschrift, in der Regel 1proz. Lösungen zu benutzen, bei Tuberkulose, Pocken und Cholera 2—5proz., bei Milzbrand 5proz. (R. Jäckel, Ztschr. f. Desinfekt.- u. Gesundheitswes. 1923. H. 11/12, S. 2,)

Bei meinen Versuchen kam 2-, 1- und 0,5proz. Chloraminlösung bzw. Soda- und Sublimatlösung zur Verwendung. Im Vergleich zu Sodalösungen stellte sich bei diesen Konzentrationen eine erhebliche Verminderung der Keimzahl heraus, während 0,5proz. und darunter liegende Chloraminlösung keinen nennenswerten bakteriziden Effekt erzielte, so daß es empfehlenswert ist, nicht unter 1 Proz. herunterzugehen. Sublimatlösung entfaltete keine bessere Wirksamkeit in den erwähnten Konzentrationen.

Schlußfolgerungen.

1) Die Angaben von Klimmer und Berger, daß Chloramin ein gut wirksames Desinfiziens sei, welches in wässerigem Medium bei Anwendung gleicher Konzentrationen dem Sublimat für ebenbürtig erachtet werden dürfe, können nach meinen Ergebnissen in vollem Umfange bestätigt werden. — 2) Vergleichen wir die Wirksamkeit des Chloramins mit der von Liquor Cresoli saponatus bei gleicher Konzentration, so fällt dieser Vergleich zugunsten des Chloramins aus. Bei den Versuchen am infizierten Objekt entfaltete eine 0,1proz. Chloraminlösung dieselbe Wirksamkeit wie eine 1 Proz. Kresol enthaltende Lösung von Liq. Cresoli sap. Die bakterizide Kraft von Chloramin zeigte sich also um etwa das 20fache stärker wie bei Kresolseifenlösung. — 3) Die Haltbarkeit der Chloraminlösungen, wenn sie im Dunkeln aufbewahrt werden, ist eine sehr gute. — 4) Lösungen von Rein- und Rohchloramin entfalten annähernd die gleiche Wirksamkeit. — 5) Die Lösungen des Präparates sind fast völlig geruchlos. — 6) Nach Waschen der Hände in stärkeren Lösungen haftet der Haut Chlorgeruch längere Zeit an, der nach Abwaschen mit Na-thiosulfat wieder verschwindet. — 7) Der Umstand, daß das Chloramin in Pulver- wie in Tablettenform hergestellt ist, bietet großen Vorteil bei dem Versand des Präparates, im Gegensatz zu dem schwierigen, hinsichtlich der Verpackung auch mit größeren Kosten verknüpften Transport der flüssigen Chemikalien. — 8) Chloraminlösungen mit Serumzusatz haben eine 10mal schwächere Wirkung als ohne Serumzusatz. Bekanntlich zeigt auch Sublimat in eiweißhaltigem Medium eine starke Abschwächung in der bakteriziden Wirksamkeit, die stärker ist als bei Chloramin (nach Klimmer u. Berger). — 9) Die Chloraminseife-Heyden entfaltet eine erhebliche bakterizide Wirkung, die auch nach längerem Lagern nicht abnimmt. Rissigwerden der Haut, Neigung zu Hautausschlägen wurde auch nach längerem Gebrauch der Seife nicht beobachtet. — 10) Auf Grund meiner Versuche halte ich folgende Konzentrationen des Chloramins für ausreichend: a) für Händedesinfektion $^1/_4$—$^1/_2$proz. Lösung, b) für Stuhldesinfektion 1proz. Lösung, c) für Fußbodendesinfektion 1proz. Lösung.

Nachdruck verboten.

Negative Eijkmansche Probe bei positivem Colibefund im Wasser.

[Aus dem Staatlichen Hygienischen Institut in Beuthen (O.-Schl.) (Direktor: Geh. Med.-Rat Prof. Dr. v. Lingelsheim).]

Von Dr. **Groetschel.**

Ein eigenartiger Befund: negativer Ausfall der Eijkmanschen (2) Probe in stark mit Coli verunreinigtem Wasser, veranlaßte uns, eine eingehende Untersuchung des in Frage kommenden Wassers vorzunehmen und die Ursache zu suchen, weshalb die Eijkmansche Probe trotz einwandfreiem, typischen Colibefunde negativ ausfiel. Es handelte sich hierbei um eine Wasserprobe, die aus einem Brunnen stammte, der a priori schon im Verdacht stand, durch tierische oder menschliche Fäkalien verunreinigt zu sein. In einer Entfernung von 4 m befanden sich Ställe und eine Abortanlage.

Im allgemeinen wird in der Literatur die Eijkmansche Probe als Indikator für fäkale Verunreinigungen als zuverlässig bezeichnet. Ich will hier nicht die Frage näher erörtern, ob Fehlschlüsse aus dem positiven Ausfall des Eijkmanschen Versuches sich ergeben können infolge von Gasbildung bei 46° durch Wirkung anderer als Coli-Bakterien [vgl. hierzu Worthmann (14), Bulir (1) u. a. ausführliche Literaturangaben bei Sachse (13)]. Erörtert soll hier nur die Frage werden, wodurch es zu erklären ist, daß bei einwandfreiem Coli-Nachweis in einem Wasser zuweilen die Eijkmansche Probe negativ ausfällt. Dieser Befund hatte verschiedentlich schon Anlaß zu Untersuchungen gegeben.

Hilgermann (7) und Nowak (9) stellten fest, daß der positive Ausfall der Eijkman-Probe abhängig sei von der Menge der Coli-Bakterien in einem Wasser. Letzterer empfiehlt daher ein Anreicherungsverfahren und die Ausführung des „sekundären Eijkmans".

Eine andere Erklärung für die Möglichkeit eines negativen Ausfalls der Eijkman-Probe trotz Anwesenheit von Coli-Bakterien gab Worthmann (14). Unter 6 aus dem Stuhl gezüchteten Coli-Stämmen fand er 2, die bei 46° kein Gas bildeten. Auch Kligler (8) konnte derartige Stämme nachweisen. Jedoch mißt Worthmann diesem Befund wenig Bedeutung zu, denn solche Stämme kämen nach seiner Ansicht fast immer in Gemeinschaft mit anderen Coli-Stämmen vor, die reichlich Gas bildeten.

Prang (11) konnte feststellen, daß nicht jede Kotaufschwemmung einen positiven Eijkman ergab. Er erhielt bei der Ausführung der Eijkmanschen Probe mit derartigen Aufschwemmungen in 28 Proz. der Fälle ein negatives Resultat. Bei der Prüfung von Coli-Stämmen, die aus Fäzes gezüchtet waren, bekam er in 15,4 Proz. der Fälle ein negatives Ergebnis. Auch er ist der Ansicht, daß eine gewisse Menge von Coli-Bazillen zum Zustandekommen der Gasbildung notwendig sei. Bei den einzelnen Stämmen sei diese verschieden.

Qantz (12) hat Stämme gefunden, die zwar alle Eigenschaften des typischen Coli aufweisen, sich aber in quantitativer Hinsicht bezüglich der Säure- und Gasbildung untereinander und vom typischen Coli unterschieden. Auch hierdurch konnte eine Erklärung für einen zweifelhaften oder negativen Ausfall der Eijkmanschen Probe gefunden werden, indem die Gasbildung bei dem einen oder anderen Stamme bedeutend weniger zutage tritt.

Flu (4) ist auf Grund seiner Untersuchungen zu der Ansicht gekommen, daß ein positiver Eijkman in Wasser, das vor längerer Zeit verunreinigt wurde, nur dann zu erwarten sei, wenn größere Wassermengen zur Untersuchung verwendet würden.

Grijns (6) bestätigte diese Ergebnisse und erklärt sie damit, daß die Eigenschaft, Traubenzucker bei 46° zu vergären, eine erworbene Eigenschaft des Coli

sei durch den längeren Aufenthalt im Darm bei durchschnittlich 37,5° und die stets dort vorrätige Glukose. Im Wasser und im Boden müssen die Coli-Bakterien die höhere Temperatur und die Glukose entbehren, wobei die Fähigkeit des Coli, Traubenzucker bei 46° zu vergären, wieder verloren gehe, durch geeignete Züchtungsversuche aber wieder geweckt werden könne.

Alle diese Möglichkeiten trafen jedoch für unseren Fall nicht zu. Hier spielte, wie wir sehen werden, ein ganz anderer Faktor die Hauptrolle bei dem negativen Ausfall der Eijkmanschen Probe: die chemische Beschaffenheit des Wassers.

Das eingesandte Material — ich bezeichne es kurz: Wasser N — wurde zunächst der Eijkmanschen Probe unterzogen, und zwar, wie im hiesigen Institut üblich, in Mengen von 1, 10 und 100 ccm. Die Keimzahl wurde durch Gelatineplatten festgestellt, der Rest zur chemischen Untersuchung verwendet.

Nach 24stünd. Aufenthalt der Gärungskölbchen bei 46° war in keinem der 3 Kölbchen eine deutliche Gasbildung festzustellen. Der „Eijkman" war also negativ und blieb es auch am 2. und 3. Tage. In den Kölbchen, die 10 und 100 ccm Wasser N enthielten, war dagegen schon nach 24 Std. eine stärkere Trübung aufgetreten, an der tiefsten Stelle der gebogenen Röhrchen hatte sich ein Bodensatz gebildet. Mit dem Niederschlag aus dem größten Kölbchen (100 ccm) wurde eine Endo-Platte beimpft. Nach 24stünd. Bebrütung bei 37° waren hierauf reichlich Kolonien gewachsen, darunter größtenteils Coli-verdächtige. Die Reinzüchtung derselben und die weitere Prüfung (Traubenzuckeragar im Stich bei 37° und 46°, Lackmusmolke usw.) ergab, daß es sich in der Tat um ein gramnegatives Stäbchen handelte, das unzweifelhaft in die Gruppe der Coli-Bakterien hineingehörte und bei 37° und 46° Traubenzucker im Stich vergärte. Die Keimzahl in 1 ccm Wasser betrug 530.

Es handelte sich also, wie auch die später anzuführende chemische Untersuchung bestätigte, um ein stark verunreinigtes Wasser, in dem Coli-Bakterien reichlich vorhanden waren.

Mit dem reingezüchteten Coli-Stamm wurde nun ein neuer Eijkmanscher Versuch vorgenommen, und zwar derart, daß mit der gleichen Menge einer Aufschwemmung beimpft wurde: 1) ein Eijkman-Kölbchen, das Leitungswasser, und 2) ein solches, das eine gleiche Menge des Wassers N enthielt. Der Ausfall des Versuches ergab überraschenderweise, daß im Leitungswasser das Coli reichlich Gas gebildet hatte, während wiederum der Eijkman im Wasser N negativ ausfiel. Aus beiden Kölbchen angelegte Endo-Platten bewiesen, daß in beiden Kölbchen massenhaft lebende Coli-Bakterien vorhanden waren.

Um die übrigen Keime auszuschalten, die vielleicht im Wasser N eine Zurückhaltung oder Ueberwucherung der Coli bewirken konnten, wurden nun zwei weitere Eijkman-Kölbchen angesetzt. Das erste enthielt eine Probe des Wassers N, die bis zum Sieden erhitzt war, das zweite die gleiche Menge gewöhnlichen Leitungswassers. Beide Kölbchen wurden beimpft mit der gleichen Menge einer Aufschwemmung der Coli-Bakterien des Stammes aus Wasser N. Wiederum blieb der Gärungsversuch im Wasser N negativ, während er im Leitungswasser stark positiv ausfiel. Auch hier zeigten die später angelegten Endo-Platten, daß lebende Coli-Keime in beiden Kölbchen in genügender Menge vorhanden waren.

Nachdem so eine hemmende Wirkung der übrigen Wasserkeime

auf den Ausfall der Eijkmanschen Reaktion ausgeschaltet werden konnte, suchten wir für die Ursache des negativen Ergebnisses den Grund in der chemischen Beschaffenheit des Wassers N.

Ein etwa dem Wasser beigegebenes Desinfiziens, das die Keime geschädigt haben könnte, war nicht nachweisbar, wohl auch nicht anzunehmen, da die in den Kölbchen entstandene Trübung auf ein ungehemmtes Wachstum der Keime schließen ließ. Zudem bestätigte die Aussaat und das reichliche Wachstum auf der Endo-Platte, daß die Wasserkeime nicht wesentlich geschädigt sein konnten. Die eben angeführten Versuche zeigten auch, daß Coli-Keime in so reichlicher Menge vorhanden waren, daß der negative Ausfall der Eijkmanschen Probe durch zu geringen Gehalt an Coli-Keimen nicht erklärt werden konnte. Um geschädigte oder nicht vergärende Coli-Keime konnte es sich auch nicht handeln, da die gleiche Menge aus der gleichen Aufschwemmung im Leitungswasser immer ein positives Resultat ergab.

Unsere weiteren Versuche gingen nun von der Erwägung aus, daß die chemische Zusammensetzung des vorliegenden Wassers das sichtbare Auftreten des bei der Gärung gebildeten Wasserstoffs verhinderte. Die chemische Untersuchung ergab:

Aeußere Beschaffenheit: klar, gelblich, geruchlos, kein Bodensatz.

Reaktion:	**schwach alkalisch (Lackmus und Rosolsäure)**		
Abdampfrückstand:	2418,0 mg	H_2S:	0
O-Verbrauch:	8,6 „	freie CO_2:	105,6
Cl:	443,7 „	**Ges.-Härte:**	77,8°
N_2O_5:	**sehr starke Reaktion**	**Temp. Härte:**	19,0°
N_2O_3:	0	**bleibende Härte:**	58,8°
NH_3:	0	Fe_2O_3:	0,15 mg

Die hohen Härtegrade und der starke Chlorgehalt konnten keinen Einfluß haben auf den Ausfall der Eijkman-Probe, denn künstlich zusammengestellte Wasserproben mit gleichen oder noch höheren Härtegraden und gleich hohem Chlorgehalt gaben bei Beimpfung mit Coli ein positives Resultat. Auszuschließen war auch noch die Vermutung, daß bei dem verhältnismäßig hohen Gehalt an organischen Substanzen im Wasser N das Coli unter diesen einen ihm besser zusagenden und leichter angreifbaren Nährstoff fand und den Traubenzucker infolgedessen unberührt ließ. Ein angestellter Versuch der Gärungsprobe mit Wasser aus einer Kläranlage, das ja noch reicher an organischen Substanzen ist, darunter wohl sicherlich dem Coli zusagenden, ergab jedoch ein stark positives Resultat.

Nur ein Versuch bezüglich der chemischen Beschaffenheit des Wassers N und seiner Auswirkung auf das Ergebnis der Eijkmanschen Probe brachten eine Erklärung, weshalb im Wasser N der Eijkmansche Versuch regelmäßig negativ ausfiel.

Salpetrige Säure war im Wasser N (s. chem. Unters.) nicht nachweisbar. Die Reaktion war angestellt nach Grieß (10) mit α-Naphthylamin + Sulfanilsäure. Dagegen ergab im „negativen" Eijkman-Kölbchen des Wassers N die Reaktion auf salpetrige Säure noch bei starker Verdünnung (1:20) ein stark positives Resultat. Beachten wir, daß im Ausgangsmaterial die Reaktion auf Salpetersäure sehr stark war [nach Winkler (5)], so wäre hierdurch die Erklärung für den negativen Ausfall der Eijkman-Probe zu finden. Das im Eijkman-Kölbchen vom Coli aus dem Traubenzucker gebildete Gas besteht aus Wasserstoff und CO_2 im Ver-

hältnis 2:1 [s. Emmerling (3)]. Der Nachweis ist verhältnismäßig leicht zu führen. Die CO_2 ist in Wasser löslich. Deren Verschwinden oder Nichtsichtbarwerden wäre also leicht zu erklären. Der Wasserstoff dagegen ist in Wasser so gut wie unlöslich. Sein Verschwinden ist nur dadurch zu erklären, daß er in statu nascendi hier eine chemische Reaktion eingegangen ist, wobei er selbst wieder gebunden wurde und nicht als Gas sichtbar werden konnte. Das Wasser N ist reich an salpetersauren Salzen, wie wir sehen konnten. Diese bieten dem Wasserstoff eine genügende Angriffsmöglichkeit, da sie durch ihn in statu nascenti verhältnismäßig leicht zu Nitriten reduzierbar sind. Ein solcher Vorgang scheint sich hier abgespielt zu haben. Während, wie schon erwähnt, anfangs im Wasser N Nitrite nicht nachweisbar waren, gab in allen „negativen" Eijkman-Kölbchen die Reaktion hierauf einen stark positiven Ausschlag. Leider ließ sich die Reaktion auf Salpetersäure in der Flüssigkeit der „negativen" Eijkman-Kölbchen nicht ausführen, da schon beim Zusatz von Schwefelsäure eine tief dunkle Verfärbung eintrat.

Den Beweis für die Richtigkeit unserer Vermutung suchten wir zu erbringen, indem wir uns aus Aq. dest. und Natriumnitrat Lösungen mit abgestuften Mengen von N_2O_5-Gehalt herstellten. Bei Ausführung der Reaktion auf Salpetersäure nach Winkler (5) mit Brucin und konzentr. Schwefelsäure entsteht bei hohem Salpetersäuregehalt — etwa 100 mgl p. l. — eine kirschrote Färbung, die bald über Orange in Gelb umschlägt. Bei etwa 10 mgl Gehalt von N_2O_5 färbt sich die Flüssigkeit rosenrot, bei etwa 1 mgl blaßrot. Unsere Lösungen von Natriumnitrat wurden in der Weise hergestellt, daß sie 1, 10, 50, 70, 90, 100, 125, 150 usw. mgl N_2O_5 im Liter enthielten. Es zeigte sich, daß die Winklersche Reaktion bis 100 mgl N_2O_5 im Liter eine gute Schätzung des Salpetersäuregehalts zuließ. Darüber hinaus wurde die Schätzung ungenau. Das Wasser N hatte hiernach einen N_2O_5-Gehalt von mindestens 100 mgl im Liter, vielleicht noch etwas mehr. In unseren Nitratlösungen konnte salpetrige Säure durch die erwähnte Reaktion nach Grieß nicht nachgewiesen werden. Wurden nun einige Eijkman-Kölbchen, obige Nitratlösungen enthaltend, mit Coli beimpft, so zeigte sich bei stets einwandfreien Kontrollen, daß der Eijkman zweifelhaft ausfiel, wenn Wasserproben verwendet wurden, die etwa 100 mgl N_2O_5 im Liter enthielten, und negativ wurden, wenn der N_2O_5-Gehalt 100 mgl im Liter überstieg. Proben aus den „negativen" Nitrat-Eijkman-Kölbchen wurden nun auf salpetrige Säure untersucht. Die Reaktion fiel jedesmal stark positiv aus, und zwar um so stärker positiv, je mehr Nitrat in dem betreffenden Kölbchen anfänglich vorhanden war. Es kann also gar keinem Zweifel unterliegen, daß hier eine chemische Umsetzung vor sich gegangen ist, daß Nitrite aus den Nitraten gebildet worden sind. Es ist wohl als sicher anzunehmen, daß der Wasserstoff, der bei der Gärung frei wird, in statu nascendi diese Umwandlung vollzogen hat. Selbstverständlich wurden die einzelnen Kölbchen regelmäßig durch Endo-Platten geprüft, ob sie tatsächlich lebende Coli-Bakterien vor und nach dem Versuch enthielten. Gelegentlich gab unbeimpfte Eijkman-Stammlösung eine geringe Mitreaktion, jedoch kann diese gegen die viel stärkere Reaktion nach dem eben geschilderten Versuch vernachlässigt werden. Zu beachten wäre noch

bei der Beurteilung obiger Ergebnisse, daß bei derartigen Versuchen die angewandte Menge der Coli-Keime leicht eine etwas größere sein wird, als sie im allgemeinen in natürlichem Wasser vorkommt. Möglicherweise liegt die Grenze des Salpetersäuregehalts, bei der die Eijkmansche Probe negativ ausfallen wird, in praxi noch etwas tiefer.

Meine Versuchsergebnisse stehen anscheinend im Widerspruch zu den Befunden, die Margarete Sachse (13) erhob. Auch sie hat den chemischen Befund von Wasserproben verglichen mit dem Ausfall der Eijkmanschen Probe und gefunden, daß bei starkem Salpetersäuregehalt der Eijkman 10mal positiv und 12mal negativ war. Sie zieht hieraus folgenden Schluß: . . „hieraus ergibt sich, daß weder die Reaktion noch der Gehalt an den Körpern, die für das Vorhandensein sich zersetzender organischer Materie sprechen, einen Schluß auf den Ausfall der Eijkman-Probe zulassen". Dieser Schluß ist bei dem Ziel ihrer Untersuchungen berechtigt. Der Widerspruch, der sich aber daraus ergibt, daß sie bei starkem Salpetersäuregehalt trotzdem einen positiven Ausfall der Eijkman-Probe erhielt, läßt sich jedoch dadurch erklären, daß durch den in den Tabellen oft wiederkehrenden Ausdruck „starke Reaktion" keine genaue Begrenzung von der Menge der salpetersauren Salze gegeben ist. „Stark" kann die Reaktion schon bei etwa 50 mgl im Liter angesprochen werden. Meine angestellten Versuche beruhen auf genaueren Angaben über den Salpetersäuregehalt und beweisen eindeutig die aufgestellte Behauptung, daß ein stärkerer Salpetersäuregehalt von etwa 100 mgl im Liter den Ausfall der Eijkman-Probe sehr wesentlich beeinflussen kann.

Es dürfte sich hiernach empfehlen, bei der Beurteilung des Eijkmanschen Versuches auch die chemische Beschaffenheit des Wassers mit zu berücksichtigen: Wenn der Eijkmansche Versuch negativ ausfällt gerade in verunreinigten Wässern, die stark N_2O_5-haltig sind, dann kann der Vergleich der Reaktion auf salpetrige Säure im Ausgangsmaterial und im Inhalt der in Frage kommenden Eijkman-Kölbchen schon einen Hinweis darauf geben, daß sich hier Vorgänge abgespielt haben, wie sie durch die geschilderten Versuche dargelegt wurden. Erst die aus dem Bodensatz angelegte Endo-Platte wird endgültig erweisen, ob Coli-Keime in dem betreffenden Wasser vorhanden sind[1]).

Zusammenfassung.

Ein negativer Ausfall der Eijkman-Probe in stark mit Coli verunreinigten Wässern kann dadurch erklärt werden, daß diese Wässer N_2O_5 in größerer Menge enthalten. Der bei der Gärung sich bildende Wasserstoff reduziert in statu nascendi die Nitrate zu Nitriten. Er tritt deshalb als Gas nicht zutage. Die bei dem Gärungsprozeß entstehende CO_2 kann sich im Wasser lösen.

Dieser Umstand ist zu berücksichtigen außer den bereits bekannten Tatsachen, daß die Eijkman-Probe negativ ausfallen kann, wenn nicht genügend Keime vorhanden sind oder die vorhandenen

1) Inzwischen ist von mir bei einem anderen Wasser mit „negativem" Eijkman das gleiche Verhalten beobachtet worden.

sich darin abweichend von der Norm verhalten, daß sie bei 46° Traubenzucker nicht vergären.

Literaturangabe.

1) Bulir, Arch. f. Hyg. Bd. 62. — 2) Eijkman, Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 37. — 3) Emmerling, Praktikum der Wasseruntersuchung. Berlin (Borntraeger) 1914. S. 164. — 4) Flu, P. C., Geneesk Tijdschr. v. Nederl. Indië. Deel 56. 1916; Ref. im Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Ref. Bd. 69. — 5) Gärtner, Hygiene d. Wassers. Braunschweig (Vieweg & Sohn) 1915. S. 848. — 6) Grijns, Centralbl. f. Bakt. Aft. I. Orig. Bd. 86. S. 173. — 7) Hilgermann, Klin. Jahrb. Bd. 22. 1910. — 8) Kligler, Journ. of infect. Dis. Vol. 15. 1914. p. 187; Ref. Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Ref. Bd. 64. S. 90. — 9) Nowak, s. Nr. 14. S. 197. — 10) Ohlmüller-Spitta, Unters. u. Beurteilung des Wassers. Berlin (Springer) 1910. S. 114. — 11) Prang, Klin. Jahrb. 1911. S. 325. — 12) Qanz, Ztschr. f. Hyg. Bd. 78. H. 2. — 13) Sachse, ebenda. Bd. 81. S. 15. — 14) Worthmann, Mitteilungen a. d. Prüfungsanstalt f. Wasserversorgung und Abwässerbeseitigung. 1907. H. 9.

Nachdruck verboten.

Ein neues binokulares Plattenkulturmikroskop.

[Aus dem Veterinärhygienischen und Tierseucheninstitut der Landesuniversität Gießen (Direktor: Prof. Dr. Zwick).]

Von Assistent Dr. med. vet. **P. Karmann.**

Mit 6 Abbildungen im Text.

Zur Untersuchung von Plattenkulturen und zur Entnahme von Kolonien aus ihnen zum Zwecke der Weiterimpfung ist ein besonderer optischer Apparat sehr zweckdienlich. Derartige Instrumente sind, wie aus einer Abhandlung von Joh. Zeißler[1]) hervorgeht, von der Firma Zeiß-Jena schon früher hergestellt worden, so die Monokellupe, die aber nur eine sehr schwache Vergrößerung gestattet, das Impfpult nach Christensen, das jedoch nur für die Betrachtung in durchfallendem Lichte sich eignet, und das große Präparierstativ von P. Mayer. Letzteres erlaubt zwar bei auffallendem Lichte zu arbeiten, doch weist es als große Nachteile einen zu kleinen Kugeltisch, eine zu geringe Schrägneigung dieses Kugeltisches und das Fehlen einer Vorrichtung zum Festhalten der Platten auf.

Im übrigen bediente man sich der schwachen Objektive der gewöhnlichen Mikroskope; doch konnten damit nur durchsichtige Kulturplatten untersucht werden.

In Verbindung mit seinen Untersuchungen über die anaëroben Bakterien hat nun Zeißler zur mikroskopischen Prüfung der auf der Traubenzuckerblutagarplatte gewonnenen Anaërobierkulturen ein binokulares Plattenkulturmikroskop eingeführt. Dieses eignet sich zur Untersuchung sowohl durchsichtiger als auch undurchsichtiger Kulturplatten. In letzterem Falle wird durch einen nach allen Seiten beweglichen, bis 45° neigbaren Kugeltisch eine seitliche Beleuchtung erzeugt und dadurch eine Besichtigung der Platten ermöglicht. Der Plattentisch ist so groß, daß mit Hilfe von Haltern nicht nur Petri-, sondern auch Drigalski-Schalen befestigt und an allen Stellen untersucht werden können.

Diesem Plattenkulturmikroskop, das einen wesentlichen und sehr

1) Zeißler, Johannes, Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 88. S. 430.

schätzenswerten Fortschritt bedeutet, haften jedoch noch gewisse Nachteile an.

Da nämlich die Kulturschalen lose in Halteringen sich befinden, geht beim seitlichen Neigen der Halbkugel die Scharfeinstellung verloren, besonders wenn bei der Untersuchung großer Platten der Beobachtungstubus nach der Seite hin verschoben wird. Ferner ist für das Absuchen von Platten des Sehfeld und für das Abimpfen der Objektabstand etwas klein. Dazu kommt noch, daß der Tisch für durchfallendes Licht einer Befestigungsvorrichtung für die Kulturplatten entbehrt und, für Zeichen- und photographische Zwecke, eine Auswechselung des binokularen gegen einen monokularen Tubus nicht möglich ist.

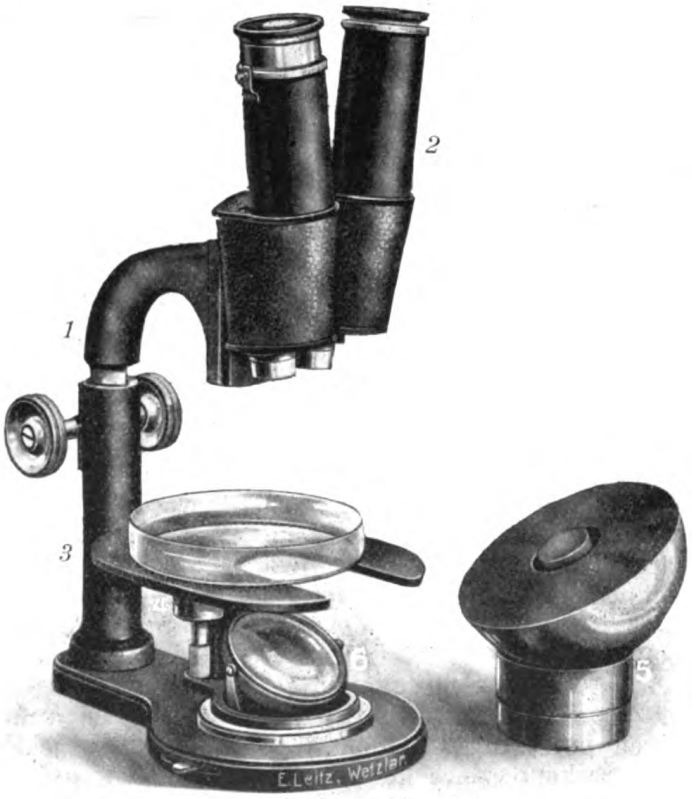


Fig. I. Das binokulare Plattenkultrmikroskop zur Betrachtung von Platten in durchfallendem Lichte.
1. Tubusträger. 2. Binokulare Lupe. 3. Stativ. 4. Gummisauger. 5. Objekttisch zum Betrachten von Kulturschalen bei auffallendem Lichte. 6. Plan- und Hohlspiegel.

Auf Anregung von Herrn Prof. Dr. Zwick hat die Firma Leitz-Wetzlar durch Herrn Heine ein neues Plattenkulturmikroskop konstruieren lassen, das in unserem Laboratorium schon in vielen Fällen zu Plattenkulturuntersuchungen herangezogen worden ist und sich dabei als sehr brauchbar erwiesen hat. Eine neue Art der Fixierung der Kulturplatten auf dem Tisch bedeutet eine wesentliche

Vereinfachung. Dabei ist die Einstellung des Objekts durch eine allseitige Verschiebung der Platten auf dem Tisch ermöglicht. Eine binokulare Lupe bietet weiterhin den Vorteil eines sehr großen Gesichtsfeldes.

Im folgenden gebe ich eine kurze Beschreibung des neuen Plattenkulturmikroskops.

Es besteht aus einem Tubusträger (Fig. I 1 und Fig. V 1), der eine durch Exzenterklemmung zu befestigende binokulare Lupe (Fig. I 2 und Fig. V 2) trägt. Diese Lupe gestattet eine 10-, 20- und 30fache Vergrößerung, ist für jede Augenweite verstellbar, zeichnet sich durch ein sehr großes Sehfeld und eine vorzügliche Sehschärfe aus. Da-

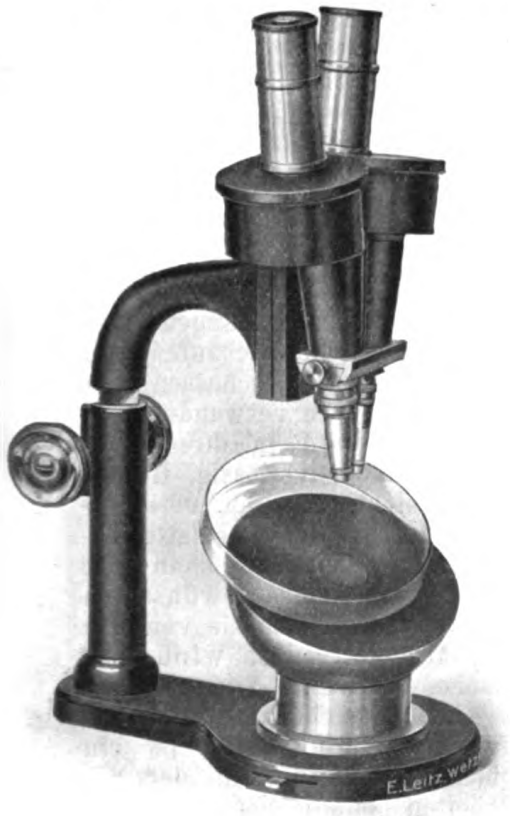


Fig. II.

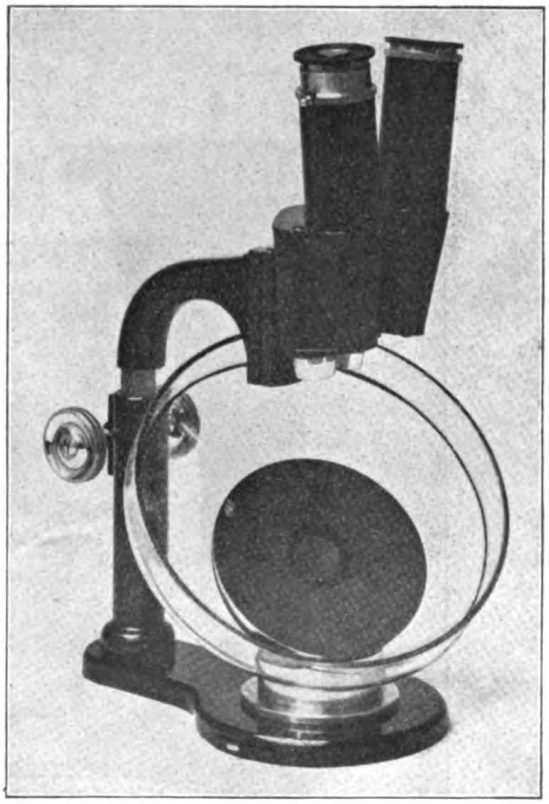


Fig. III.

Fig. II. Betrachtung einer Kulturschale bei auffallendem Lichte. An Stelle der Lupe (Fig. I 2) ein Greenough-Tubus.

Fig. III. Wie Fig. II, aber mit Lupe u. Drigalski-Schale.

durch, daß die rechte Augenlinse der Lupe verstellbar ist, ist auch bei ungleichen Augen ein deutliches Sehen gewährleistet. Die genannten Vergrößerungen reichen im allgemeinen für unsere sämtlichen Arbeiten vollständig aus. Im übrigen können an Stelle der Lupe bei Bedarf andere monokulare (Fig. V 9 u. 10) und binokulare Tuben, z. B. ein Greenough-Tubus (Fig. II), mit noch stärkeren Vergrößerungen eingeschaltet werden. Auf besonderen Wunsch kann für

photographische Zwecke ein eigener Tubus (Fig. IV und Fig. V 8) geliefert werden.

Der Tubusträger wird getragen von einem Stativ (Fig. I 3), das eine Prismenführung aufweist und eine Verstellung des Tubus durch Zahn und Trieb zuläßt. In der Fußplatte des Stativs befindet sich ein kreisrunder Ausschnitt mit Exzenterklemmung (Fig. V 1).

Sollen durchsichtige Kulturplatten besichtigt werden, so wird mit der erwähnten Klemmung ein vorn mit einem Ausschnitt versehener Objekttisch (Fig. I und Fig. V 6) in der Fußplatte des Stativs eingespannt. Zur Beleuchtung dient ein unterhalb des Ausschnittes angebrachter, nach allen Seiten drehbarer Plan- und Hohlspiegel (Fig. I 6 und V 6). Als sehr zweckmäßig zur Fixierung der Platte, z. B. beim Abimpfen oder Photographieren, hat sich ein im Objekttisch befindlicher Gummisauger (Fig. I 4) erwiesen. Dieser wird mit etwas Seifenlösung benetzt und von unten her fest an die Kulturschale angedrückt. Auf diese Weise kommt zwischen Sauger und Platte ein luftverdünnter Raum zustande, genau so wie bei den Gummisaugern, die man zum Aufhängen von Reklamen an den Schaufenstern oder bei den Geschossen der Eureka-Gewehre verwendet, und die Platte wird in ihrer Lage sicher und zuverlässig fixiert. Zur Besichtigung der verschiedenen auf der Kulturplatte befindlichen Kolonien kann die Platte in jeder gewünschten Richtung, ohne daß sie von dem Gummisäuger gelöst wird, verschoben werden.

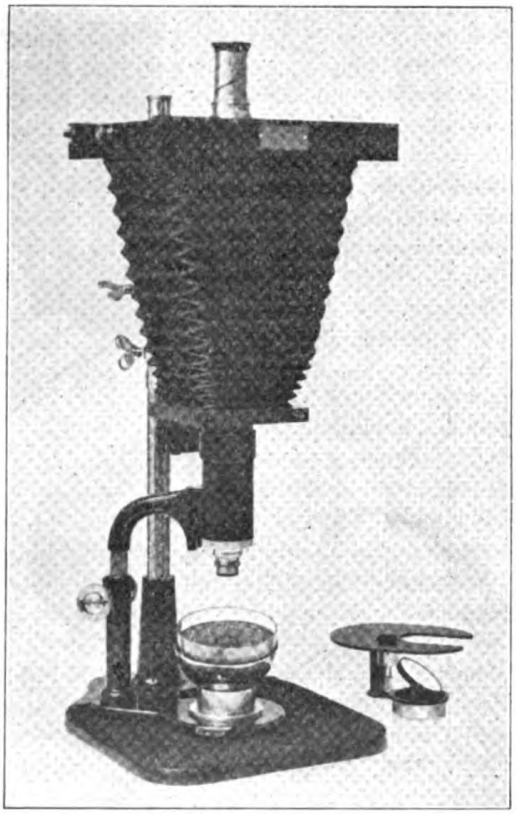


Fig. IV. Eine photographische Aufnahme mit dem Plattenkulturmikroskop.

Zur Besichtigung undurchsichtiger Kulturplatten ist ein Objekttisch notwendig, der das Arbeiten bei auffallendem Lichte (Fig. I 5, Fig. II und Fig. III) gestattet. In diesem Falle wird in der Fußplatte eine Hülse (Fig. V 4) eingespannt, die in ihrem Innern einen in der Höhe verstellbaren Gummisauger trägt. Auf diesen Sauger wird eine als Objekttisch dienende vernickelte Halbkugel (Fig. V 5) aufgedrückt und zusammen mit dem Gummisauger so lange nach rechts gedreht, bis sie einerseits jede Stellung beibehält, andererseits aber noch leicht verschiebbar bleibt. Dieser Kugeltisch ist nach allen Richtungen drehbar und trägt seinerseits in der Mitte einen wiederum in der Höhe verstellbaren Gummisauger. Durch Aufdrücken auf diesen Sauger und Rechtsdrehen werden die Kulturschalen gegen den Objekttisch gepreßt und genügend fixiert, und zwar so, daß sich die Schalen

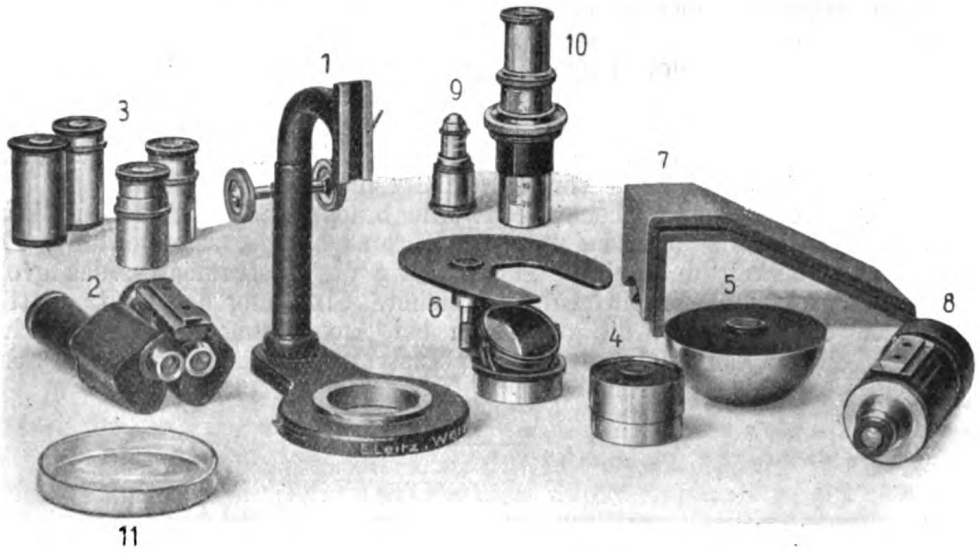


Fig. V. Die Bestandteile des Plattenkulturmikroskopes.
1. Stativ u. Tubusträger. 2. Binokulare Lupe. 3. Okulare für die Lupe. 4. Hülse mit Gummisauger zur Aufnahme der Halbkugel. 5. Vernickelte Halbkugel mit Gummisauger. 6. Objekttisch für durchfallendes Licht. 7. Zwei Armstützen. 8. Tubus für photographische Aufnahmen. 9. u. 10. Monokularer Tubus mit Objektiv.

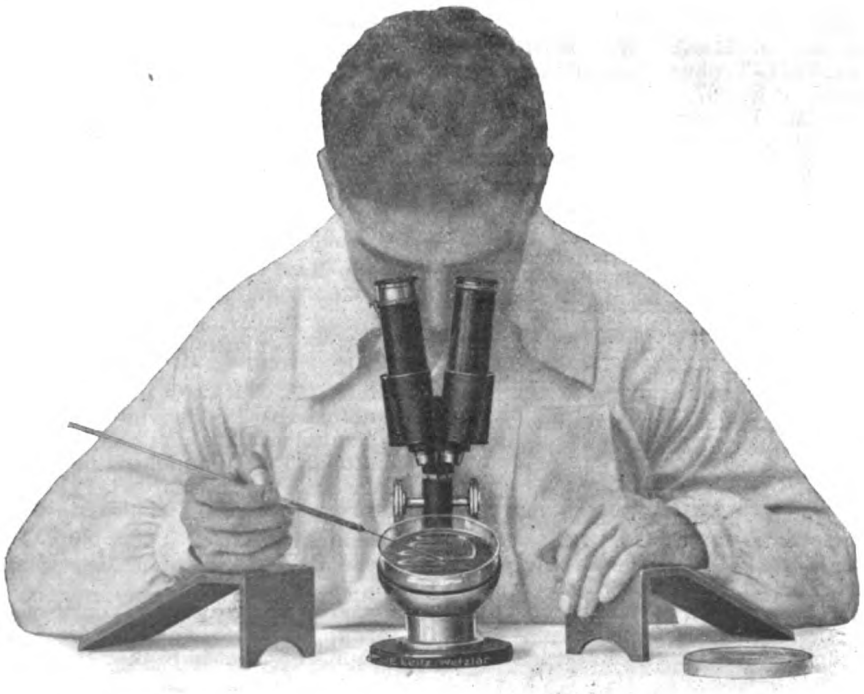


Fig. VI. Vorführung einer Abimpfung von einer Kulturschale. Zwei frei bewegliche Armstützen ermöglichen ein bequemes Abimpfen.

noch leicht verschieben und daß beliebige Stellen sich einstellen lassen. Dabei behalten die Platten ihre Lage auch bei stärkster Schrägstellung der Halbkugel bei. Der Abstand des Kugeltisches von der Säule ist so berechnet, daß nicht nur Petri-, sondern auch Drigalski-Schalen (Fig. III) bequem untersucht werden können.

Zwei frei bewegliche Armstützen (Fig. V 7 und VI) dienen dazu, ein bequemes Abimpfen von den Kulturplatten zu ermöglichen.

Das oben beschriebene Leitzsche binokulare Plattenkulturmikroskop hat sich bis jetzt bei unseren Untersuchungen sehr bewährt. Die Zweckmäßigkeit und leichte Handhabung des Instrumentes, das große Gesichtsfeld und die einfache und sichere Fixierung der Kulturplatten durch Gummisauger, die vor allem bei Anwendung des Kugeltisches zur Geltung kommt, haben uns das Instrument unentbehrlich gemacht.

Inhalt.

Acél, D., u. **Acél-Vécsei, Anna,** Ueber die „physiologische“ Agglutination des Y-Dysenteriebazillus, S. 363.

Barnewitz, J. u. **Flecke, Heinrich,** Vergleichende Untersuchungen über den Stoffwechsel von Bacterium coli und typhi, mit besonderer Berücksichtigung des Endoschen Nährbodens, S. 359.

Beck, A., u. **Huck, W.,** Beitrag zu den „Coli-Typhus“-Erkrankungen der Haustiere, S. 397.

Bergin, E., Untersuchungen über Chloramin-Heyden, S. 465.

Braun, H., u. **Nodake, R.,** Ueber die Rolle des Ekto- und Endoplasmas der Bakterien für die Serumbakterizidie und für die Phagozytose, S. 429.

Grassi, B., Nach fünfundzwanzig Jahren. Chronologische Uebersicht der Entdeckung der menschlichen Malariaübertragung, S, 392.

Groetschel, Negative Eijkmansche Probe bei positivem Colibefund im Wasser, S. 470.

Jacobitz, E., Bakterienagglutination in Zuckerlösungen (biologische Säureagglutination), S. 443.

Karmann, P., Ein neues binokulares Plattenkulturmikroskop. Mit 6 Abbildungen im Text, S. 475.

Kimura, K., Zur Artbestimmung der Putrificus-Bazillen, S. 342.

Knorr, Maximilian, Untersuchungen über den Erreger der ägyptischen Augenentzündung (Koch-Weekssches Bakterium) und seine Beziehungen zum Pfeifferschen Influenzabazillus. I. Mitt. Mit 3 Abbildungen im Text, S. 371.

—, Untersuchungen über den Erreger der ägyptischen Augenentzündung (Koch-Weekssches Bakterium) und seines Beziehungen zum Pfeifferschen Influenzabazillus. II. Mitt. S. 385.

Küstner, Heinz, Studien über die Ueberempfindlichkeit, S. 428

Manninger, R., Beitrag zur Aetiologie und Prophylaxe des Rauschbrandes und des malignen Oedems der Wiederkäuer, S. 418.

Meißner, Gertrud, Versuche über die Flüchtigkeit und Kochbeständigkeit des d'Herelleschen Bakteriophagen. Mit 3 Abbildungen im Text, S. 424.

Pesch, Karl L., u. **Schütt, Hans,** Eine Hühnertyphusepizootie, S. 414.

Schilf, Friedrich, Erfahrungen mit dem Trockenkomplement „Pharmagans“, S. 438.

Scholz, W., Nachweis und Austitrierung antitoxischer Sera (insbesondere des Tetanusantitoxins) im Reagenzglas, S. 434.

Tomioka, Y., Bakteriologische und serologische Untersuchungen bei einer neuen Art von anaëroben Fäulnisbazillen, S. 321.

Trawinski, Alfred, Paratyphus B-ähnliche Bakterien in den Menschenfäzes, S. 356.

Wassermann, August v., Zur Frage der Spaltbarkeit des syphilitischen Antigen-Serum-Aggregates, S. 370.

Frommannsche Buchdruckerei (Hermann Pohle) in Jena.

Centralbl. f. Bakt. etc. I. Abt. Originale. Bd. 92. Heft 7/8.

Ausgegeben am 15. Oktober 1924.

Nachdruck verboten.

Ueber das unterschiedliche Verhalten mehrerer mit dem gleichen Antigen bei verschiedenen Tierarten hergestellter Typhus- und Gärtner-Immunsera beim Absättigungsversuch nach Castellani.

[Aus der bakteriologischen Abteilung des Reichsgesundheitsamtes (Serologisches Laboratorium).]

Von **H. Beger.**

Wie aus den Angaben der Literatur hervorgeht, bereitet die hohe Mitagglutination der Gärtner-Bazillen durch Typhussera, wie umgekehrt der Typhusbazillen durch Gärtner-Sera, der sicheren Feststellung dieser beiden Krankheitserreger erhebliche Schwierigkeiten, zum Teil macht sie letztere beinahe unmöglich. Zur Entscheidung der Frage, ob bei solchen Fällen, deren Sera 2 oder mehrere Bakterienarten agglutinieren, eine Mischinfektion vorliegt, oder ob man es lediglich mit einer Mitagglutination zu tun hat, ist bekanntlich von Castellani (1) das Absättigungsverfahren vorgeschlagen worden, das im Laufe der zahlreichen Nachprüfungen eine sehr verschiedene und teilweise widersprechende Beurteilung gefunden hat, auf der einen Seite rückhaltslose Anerkennung, auf der Gegenseite absolute Ablehnung. Aus der großen Zahl der Autoren, denen die Differenzierung verschiedener Bakterienarten mit Hilfe des Castellanischen Absättigungsverfahrens gelang, seien genannt: Jürgens (2), Vagedes (3), Totsuka (4), Gaethgens (5), Kruse (6), Liefmann (7), d'Amato (8). Demgegenüber erzielten sich widersprechende, zum Teil völlig negative Resultate: Posselt und v. Sagasser (9), Zupnik u. Posner (10), Bonhoff (11), Rieux und Sacquepée (12), Citron (13), Lentz (14), Spät (15).

Manteufel und Beger (16.) haben die Absättigungsmethode für die Typentrennung in der Paratyphus-B-Gruppe angewendet und dabei eine praktisch brauchbare Differenzierung der einzelnen Bakterienarten erzielt. Es lag daher nahe, die gleiche Methodik hinsichtlich ihrer Brauchbarkeit bei der Differenzierung in der Typhus-Gärtner-Gruppe zu benutzen, um eine sichere agglutinatorische Trennung zwischen diesen beiden Bakterienarten zu ermöglichen. Entsprechende Versuche sind schon von einigen Autoren gemacht worden. Liefmann (7.) konnte bei seinen Untersuchungen feststellen, daß ein mit Typhusbazillen vollkommen abgesättigtes Typhusserum auch für Gärtner-Bazillen keine Agglutinine enthält, während dasselbe Serum mit Gärtner-Bazillen abgesättigt, Typhusbazillen noch stark agglutinierte. Paratyphus-B-Kulturen waren nicht imstande, dem Serum Agglutinine für Gärtner-Bazillen in erheblichem Maße zu entziehen, ebensowenig natürlich auch solche für Typhusbazillen. Liefmann ging dabei so vor, daß er die absättigende Kultur gerade so reichlich (?) bemaß, daß sie eben noch das Serum in der Verdünnung 1:1000 vollkommen absättigte. Versetzte er das Typhusserum mit geringeren Mengen von Typhusbazillen, so war danach doch noch eine Beeinflussung der Gärtner-Bazillen zu erkennen. Als Erklärung für dieses Verfahren nimmt Liefmann an, daß im Typhusserum ein Teil der enthaltenen Agglutinine sowohl zum Typhus- wie zum Gärtner-Bazillus eine gewisse Avidität hat. Diese gemeinsame Agglutinine machen nur einen Teil sämtlicher im Serum enthaltenen aus, denn die Gärtner-Kulturen vermögen

auch in erheblichen Mengen das Typhusserum nicht abzusättigen. Versuche mit Gärtner-Serum sind nicht angestellt worden. Lebram (17.) sättigte ein Gärtner-Serum in der Verdünnung 1:100 derart ab, daß er solange Gärtner-Bazillen zusetzte, bis eine leichte Trübung bestehen blieb. Nach dem Zentrifugieren wurde das überstehende klare Serum auf seine Agglutinationsfähigkeit gegenüber Typhusstämmen geprüft, die nicht mehr beeinflußt wurden. Nach dem Absättigen desselben Gärtner-Serums mit verschiedenen Typhusstämmen ergab die Prüfung gegen Gärtner-Bazillen nur zweimal ein negatives Resultat, in den übrigen 13 Fällen war sie deutlich positiv. d'Amato (8.) sättigte bei seinen Untersuchungen ein Typhusimmunserum, das Gärtner-Bazillen gleich hoch mitagglutinierte, in der Verdünnung 1:10 ab. Dieses verlor, wenn es mit einer Typhuskultur behandelt wurde, fast alle seine Agglutinine und Mitagglutinine; denn es wies nur eine sehr verminderte Agglutinationsfähigkeit für Gärtner-Bazillen auf. Wurde dasselbe Serum mit einer Paratyphus-B-Kultur behandelt, so verlor es das Agglutinationsvermögen für diesen Keim, für Gärtner-Bazillen und die übrigen mitagglutinierten Bakterienarten vollständig, nicht aber für Typhusstämme. Aus den sehr eingehenden Untersuchungen Rehberg's (18.) an Typhus- und Gärtner-Kaninchenseren geht hervor, daß die Agglutinine der Sera durch das homologe Antigen schnell und restlos absorbiert werden. Durch Behandeln mit dem spezifischen Erreger schwinden mit und meist vor dem Hauptagglutinin auch alle Nebenagglutinine. Unter dem Einfluß heterologer Bakterien blieb das Hauptagglutinin entweder unverändert oder etwas herabgesetzt. In jüngster Zeit haben Weil und Felix (19, 20, 21.) bei ihren Untersuchungen über den Doppeltypus der Rezeptoren in der Typhus-Paratyphusgruppe festgestellt, daß in den künstlich erzeugten Immunseren gegen Typhus- und Gärtner-Bazillen 2 verschieden wirkende, grobflockende und kleinflockende Agglutinine sich finden, denen entsprechend die Typhus- und Gärtner-Bazillen 2 verschiedene Rezeptoren besitzen, labile durch Erhitzen auf 100° C zerstörbare, die mit den grobflockenden Agglutininen der zugehörigen Immunsera in Reaktion treten, und stabile beim Erhitzen nicht zerstörbare, die auf die kleinflockenden Agglutinine reagieren. Demzufolge konnten die Autoren eine Unterscheidung zwischen Typhus- und Gärtnerbazillen bei Immunseren, die mit auf 100° C erhitzten Bakterien von Typhus- und Gärtner-Kulturen hergestellt waren, nicht erreichen, da sowohl Typhusstämme die Gärtner-Agglutinine als auch Gärtner-Stämme die Typhus-Agglutinine binden. Die Autoren ziehen aus diesen Befunden den Schluß, daß die kleinflockenden Typhusagglutinine mit den kleinflockenden Gärtner-Agglutininen identisch sind, d. h. daß beide Bakterienarten dieselben stabilen Hauptrezeptoren besitzen. Nur die grobflockenden Agglutinine lassen eine Differenzierung zu. Daß der Castellanische Versuch bei den mit nicht gekochten Typhus- und Gärtner-Bazillen hergestellten Immunseren eine Unterscheidung ermöglicht, beruht auf der Verschiedenheit der spezifischen grobflockenden Agglutinine bzw. der labilen Rezeptoren. Denn durch die Behandlung eines Tphyusimmunserums mit Typhusbazillen wurden die kleinflockenden Agglutinine für Gärtner-Bazillen gebunden und das Immunserum für Gärtner-Bazillen unwirksam, während durch die Behandlung desselben Immunserums mit Gärtner-Bazillen die spezifischen grobflockenden Agglutinine für Typhusbazillen unberührt blieben. Dasselbe trat im umgekehrten Falle ein. Auch bei Typhuskrankenseren konnten sie entsprechende Ergebnisse erzielen, da der mitagglutinierte Gärtner-Stamm nur die gegen ihn und den Typhusstamm gerichteten kleinflockenden Agglutinine band, dagegen die grobflockenden Typhusagglutinine intakt ließ. Eine Nachprüfung und Erweiterung fanden diese Untersuchungen durch die Arbeiten von Gruschka (22.) und Schiff (23.), die die Anschauungen von Weil und Felix bestätigten und auf demselben Wege eine Differenzierung zwischen Typhus und Gärtner erzielten.

Für meine Untersuchungen standen je ein agglutinierendes Typhus- und Gärtner-Kaninchenserum, je ein agglutinierendes Typhus-, Gärtner- und Paratyphus B-Eselserum, sowie ein Typhus-Hammel-Immunserum zur Verfügung. Zur Agglutination fanden 39 Typhus- und 24 Gärtner-Stämme aus der Sammlung des Reichsgesundheitsamtes Verwendung, die vor der Anstellung der Untersuchung nochmals auf Reinheit und hinsichtlich ihrer biochemischen Eigenschaften geprüft und einwandfrei befunden worden waren. Die Technik der Absättigung wurde in derselben Weise zur Anwendung gebracht, wie sie Manteufel und Beger (16) schon in zahlreichen früheren Versuchen

als wirksam und zuverlässig erprobt hatten: Je eine Schrägagarkultur der benutzten Bakterien wurde mit 1 ccm isotonischer Kochsalzlösung abgeschwemmt (je eine Petri-Schale der Oberflächenaussaat mit 5 ccm physiol. NaCl-Lösung bzw. je eine Drigalski-Schale mit 25 ccm physiol. NaCl-Lösung), gut durchgeschüttelt und mittels elektrischer Zentrifuge ausgeschleudert, bis das Waschwasser vollkommen klar erschien. Nach Entfernung der Waschflüssigkeit wurde der Bodensatz in der gleichen Menge (1 ccm auf je eine Schrägagarkultur) des auf 1:100 verdünnten Immunserums aufgeschwemmt, darin fein verteilt und zum Binden 1 Std. in den Brutschrank von 37° C gebracht. Alsdann wurde nochmals scharf zentrifugiert und der Abguß zur Agglutinationsprüfung verwendet.

Zunächst wurden Versuche mit einem agglutinierenden monovalenten Gärtner-Kaninchen-Immunserum angesetzt. Dieses Serum war durch Immunisieren mit 1 Std. bei 60° C abgetöteten Bazillen unseres Sammlungsstammes Gärtner G 7 hergestellt, dessen kulturelle, biochemischen und agglutinatorischen Eigenschaften ihn als sicheren Vertreter der Gärtner-Gruppe erkennen lassen. Das Serum agglutinierte seinen homologen Stamm und eine Anzahl anderer Gärtner-Kulturen unserer Sammlung gut bis 1:10000 bei Lupenkontrolle, die meisten der übrigen Gärtner-Kulturen etwas niedriger (5000 und weniger). Die zahlreichen untersuchten Typhusstämme wurden meist weit geringer beeinflußt, durchschnittlich bis zu der Verdünnung 1:500, doch fanden sich, wie aus der Tabelle ersichtlich ist, auch vereinzelte Stämme, die bis zum Endtiter des Serums reichten. Der Bindungsversuch mit einer homologen Kultur verlief dem Castellanischen Gesetz entsprechend, indem beim Absättigen mit dem homologen Stamm Gärtner G 7 sämtliche Agglutinine herausgenommen wurden. Wurde das gleiche Serum mit einem Typhusstamm behandelt, dann blieben die Gärtner-Agglutinine unbeeinflußt oder wurden nur wenig im Titer herabgesetzt. Dabei ergab sich eine großflockende Agglutination für Gärtner, die mit den fallenden Serumverdünnungen eine deutliche Abstufung erkennen ließ.

Ganz anders verhielt sich beim Absättigen ein Gärtner-Esel-Immunserum. Dieses Serum war mit der gleichen Gärtner-Kultur wie das eben erwähnte Gärtner-Kaninchen-Immunserum hergestellt und ebenfalls durch Immunisieren mit 1 Std. bei 60° C abgetöteten Bazillen gewonnen. Das Serum besitzt einen homologen Titer von 5000 + bei Lupenkontrolle und agglutiniert die meisten unserer Typhusstämme ungefähr gleich hoch. Wurde dieses Gärtner-Eselserum dem Absättigungsversuch nach Castellani mit seinem homologen Stamm unterworfen, so wurden mit dem Hauptagglutinin auch alle Nebenagglutinine gebunden. Dagegen ergab der in gleicher Weise ausgeführte Bindungsversuch mit Typhusbazillen, daß das Serum nach dem Absättigen auch die Mehrzahl der Agglutinine für Gärtner-Bazillen verloren hatte, indem bei der Agglutination dieses abgesättigten Serums mit den homologen Gärtner-Kulturen in der Regel nur eine äußerst feinflockige Agglutination nachweisbar blieb, die lediglich im Agglutinoskop einwandfrei sichtbar war und in bezug auf Deutlichkeit innerhalb der Versuchsreihe von 1:100 bis 1:1000 keine abfallenden Unterschiede zeigte. Es ergibt sich mithin aus diesem Versuch, sofern man diese undeutlichen Reaktionen als feinflockige Agglutination anspricht, gegenüber den Angaben von Weil und Felix ein Unterschied insofern,

als offenbar die für Gärtner und Typhus gemeinsamen Agglutinine ein grobflockiges Verhalten aufweisen, während die spezifischen Agglutinine sich als feinflockig darstellen. Wir sehen also, daß beim Immunisieren mit demselben Kulturstamm durch die zu diesen Untersuchungen verwendeten beiden Tierarten ganz verschiedene Agglutinine gebildet werden: Beim Kaninchen spezifische grobflockige und übergreifende, gemeinsame feinflockige Agglutinine, beim Esel spezifische feinflockige und übergreifende, gemeinsame grobflockige Agglutinine.

Derselbe grundsätzliche Unterschied zeigte sich bei der Untersuchung eines Typhus-Kaninchen- und Typhus-Esel-Immunserums. Zunächst wurde ein monovalentes Typhus-Kaninchen-Immunserum untersucht, das durch Immunisieren mit 1 Std. bei 60° C abgetöteten Bazillen eines alten Sammlungsstammes Typhus Renken hergestellt war, der als Erreger einer Typhusinfektion bekannt ist. Das Serum agglutinierte die zahlreichen Typhusbazillenkulturen meist bis zum homologen Endtiter von 10000+, während es Gärtner-Stämme nur in den stärkeren Konzentrationen bis ungefähr 1:500, zu einem geringen Teil garnicht beeinflußte. Wurde dieses Kaninchenimmunserum dem Absättigungsversuch mit seinem homologen Stamm unterworfen, so wurden der Erwartung entsprechend mit dem Hauptagglutin auch die Nebenagglutinine beseitigt, während beim Absättigungsversuch mit einem Gärtner-Stamm die Hauptagglutinine, die eine ausgesprochen grobflockige Agglutination erzeugten, unverändert blieben oder eine nur unwesentliche Abschwächung erfuhren.

Das vorerwähnte Typhus-Esel-Serum, das zu diesen Untersuchungen herangezogen wurde, ist ebenfalls mit 1 Std. bei 60° C erhitzten Bazillen des Stammes Typhus Renken hergestellt. Das Serum hat einen homologen Titer von ungefähr 10000 bei Lupenkontrolle und agglutiniert außer den zahlreichen Typhuskulturen auch die Gärtner-Stämme unserer Sammlung ungefähr gleich hoch. Der Bindungsversuch dieses Serums mit dem homologen Stamm verlief dem Castellanischen Gesetz entsprechend. Wurde das gleiche Serum hingegen mit einem Gärtner-Stamm abgesättigt, so ergab sich beim Zusetzen der homologen Typhusbazillenkulturen eine äußerst feinflockige Agglutination, die entsprechend dem Befund bei dem Gärtner-Eselserum nur im Agglutinoskop gut sichtbar war und keine Abstufung in den fallenden Serumsverdünnungen aufwies.

Schließlich stand mir noch ein Hammel-Immunserum zur Verfügung, das neuerdings im Laboratorium von Herrn Prof. Dr. Gildemeister hergestellt worden ist. Dieses Serum wurde ebenfalls durch Immunsieren mit 1 Std. bei 60° C abgetöteten Kulturen des Stammes Typhus Renken gewonnen und agglutiniert die homologen Typhusstämme gut bis 1:20000 + bei Lupenkontrolle, während die Gärtner-Stämme bis ungefähr 1:1000 beeinflußt wurden. Beim Absättigen wurden durch den homologen Stamm sämtliche Agglutinine entfernt, während nach der Bindung mit Gärtner-Bazillen bei der Agglutination mit den Typhuskulturen eine grobflockige Agglutinationsreihe übrig blieb. Das Hammel-Immunserum verhält sich also ganz wie das untersuchte Typhus-Kaninchenserum, sowohl was die Titerdifferenz für Typhus- und Gärtner-Kulturen anlangt, als auch hinsichtlich des Ergebnisses beim Absättigungsversuch, indem die spezifischen Agglutinine auch hier grobflockiges Aussehen zeigen.

Bekanntlich werden nach Sachs (24) die „koktolabilen" großflockenden Agglutinine durch Erhitzen der agglutinablen Substanz auf 100° C zerstört. Weil und Felix (19), Gruschka (22), Schiff (23) konnten dementsprechend durch auf 100° C erhitzte Gärtner- und Typhuskulturen Immunsera erzeugen, welche nur feinflockige Agglutinine enthielten, die beim Absättigungsversuch von beiden Bakterienarten gebunden wurden, so daß sich keine Unterscheidung zwischen Gärtner und Typhus ermöglichen ließ. Aus dieser Tatsache folgern die Autoren die Annahme einer weitgehenden Rezeptorengemeinschaft zwischen diesen beiden Infektionserregern. Eine Bestätigung für diese Annahme kann man in den Ergebnissen der von mir untersuchten Gärtner- und Typhus-Esel-Immunsera erblicken, sofern man der, nach dem Absättigen mit dem heterologen Stamm verbleibenden, undeutlichen Reaktion kein Gewicht beilegt. Eine weitere Bestätigung ergab der Umstand, daß es tatsächlich gelang, auch aus einem Paratyphus B-Eselimmunserum, das Typhus- und Gärtner Rezeptoren als Nebenagglutinine ungefähr in gleicher Höhe enthielt, durch Absättigen einerseits mit Typhusbazillen, andererseits mit Gärtner-Bakterien dieselben Agglutinine herauszunehmen. Dieses Serum hatte durch die Untersuchungen von Manteufel und mir seine Brauchbarkeit zum Bindungsversuch nach Castellani erwiesen. Es ist mit einem Sammlungsstamm hergestellt, der als Erreger einer „echten Paratyphus-B-Infektion" isoliert wurde. Das Serum hat einen homologen Titer von gut 1:10000 bei Lupenkontrolle und agglutiniert außer echten Paratyphus-B-Stämmen die nach den Bitterschen Gesichtspunkten in Kiel als „Enteritis Breslau" festgestellten Erreger vieler Fleischvergiftungen sowie Gärtner-Stämme und Typhuskulturen. Nach den Untersuchungen von Manteufel und mir wurden aus diesem Paratyphus-B-Eselserum durch Absättigung mit einem Stamm der „Paratyphus-B-Gruppe" die Agglutinine für sämtliche Bakteriengruppen herausgenommen, nach Absättigung mit einem Stamm der „Breslaugruppe" blieben nur die Agglutinine für „Paratyphus-B" im Serum nachweisbar, und bei Absättigung mit einem „Gärtner-Stamm" blieben die Agglutinine für Paratyphus-B und Breslau erhalten. Es ergab sich nun bei meinen Untersuchungen die interessante Tatsache, daß beim Absättigen dieses Paratyphus-B-Serums mit einem Gärtner-Stamm nicht nur die Agglutinine für diese Bakterien herausgenommen wurden, sondern auch für die vorher ziemlich gleich hoch beeinflußten Bakterien der zahlreichen Typhuskulturen. Wurde der Bindungsversuch mit einem Typhusstamm vorgenommen, so blieben grobflockige Agglutinine für Paratyphus B und Breslau erhalten, dagegen wurden Gärtner- und Typhusbazillen nicht mehr beeinflußt. Es zeigt sich also auch bei dem Paratyphus-B-Esel-Serum, daß die Typhusbazillen sich im Bindungsversuch genau so verhalten, wie die kulturell und biochemisch verschiedenen Gärtner-Bazillen.

Sättigt man das in diesen Versuchen benutzte Gärtner-Esel-Serum mit einer Paratyphus-B-Kultur ab, so bleiben, wie Manteufel und ich in der erwähnten früheren Arbeit gezeigt haben, grobflockige und typisch abgestufte Agglutinationsreihen für die homologen Stämme übrig. Die mit den Gärtner-Bazillen biochemisch nahe verwandten Paratyphus-B-Bazillen lassen also bei der Absättigung in dem Gärtner-Esel-Serum grobflockige spezifische Agglutinine für Gärtner unbeeinträchtigt, während die mit den Gärtner-Bazillen biochemisch weniger verwandten Typhusbazillen diese grobflockigen Agglutinine heraus-

nehmen. Man bekommt im ersten Falle durch den Castellanischen Versuch eine ganz einwandfreie Differenzierung zwischen Gärtner und Paratyphus-B, im letzteren Falle aber eine undeutliche Agglutinationsreihe, die keine einwandfreie Differenzierung zwischen Gärtner und Typhus zuläßt. Das gleiche Eselserum ist also in dem einen Falle für den Absättigungsversuch geeignet, im anderen nicht.

Eine theoretisch befriedigende Erklärung für diese differenten Befunde wage ich noch nicht zu geben, vor allem deswegen nicht, weil es mir noch nicht bewiesen erscheint, ob es sich bei der hier mit Weil und Felix als kleinflockig bezeichneten Flockung wirklich um das spezifische Agglutinationsphänomen handelt. Gegen diese Annahme spricht meines Erachtens einmal der Umstand, daß die Flockung sehr undeutlich ist und lange Zeit von uns bei Lupenbetrachtung übersehen und als negativ gedeutet wurde, und zweitens die Tatsache, daß sich im Gegensatz zu dem Agglutinationsphänomen in unabgesättigten Seren keine innerhalb der Agglutinationsbreite bezüglich Deutlichkeit abgestufte Reihe ablesen läßt.

Da die Versuche mit zahlreichen (63) Stämmen der Typhus- und Gärtner-Gruppe ausgeführt und mehrfach wiederholt wurden, kann man Zufallsbefunde wohl ausschließen und eine gewisse Gesetzmäßigkeit daraus ableiten, die ich in den folgenden Schlußsätzen zusammenfasse:

1) Durch Immunisieren von Kaninchen mit Kulturen eines Gärtner-Stammes G .7 wurde ein Immunserum gewonnen, das Hauptagglutinine für Gärtner-Bazillen bis etwa 1:10000 und Nebenagglutinine für Typhusbazillen bis etwa zum gleichen Titer von 1:10000, meist aber viel weniger enthielt. Nach dem Castellanischen Absättigungsgesetz ließen sich aus diesem Immunserum mittels einer Gärtner-Kultur sämtliche Agglutinine entfernen, während nach Absättigung mit einem Typhusstamm die Agglutinine für Gärtner voll erhalten blieben. Andererseits wurde ein mit der gleichen Gärtner-Kultur hergestelltes Esel-Immunserum untersucht, das Gärtner- und Typhusbazillen etwa gleich hoch bis zu einer Verdünnung von 1:10000 agglutinierte. Abweichend vom Castellanischen Absättigungsgesetz wurde in diesem Falle bei der in gleicher Weise ausgeführten Absättigung mit einem Typhusstamm die Mehrzahl der Agglutinine für Gärtner herausgenommen. Bei der Agglutination dieses abgesättigten Serums mit den homologen Gärtner-Kulturen ergab sich in der Regel eine äußerst feinflockige Agglutination, die nur im Agglutinoskop einwandfrei sichtbar war und in bezug auf Deutlichkeit innerhalb der Versuchsreihe 1:100 bis 1:10000 keine deutlich abfallenden Unterschiede ergab.

2) Derselbe grundsätzliche Unterschied zwischen Kaninchen- und Esel-Immunserum wurde bei der vergleichenden Prüfung eines Typhus-Kaninchenserums und eines Typhus-Eselserums festgestellt. Auch hier blieb bei der Absättigung des Kaninchenserums mit einer Gärtner-Kultur eine unvermindert deutliche Agglutination für Typhusbazillen bestehen, während bei dem Typhus-Eselserum eine nur im Agglutinoskop sichtbare, mit den fallenden Serumverdünnungen kaum abgestufte Reihe

übrig blieb, die man leicht übersehen und ohne Kenntnis der Untersuchungen von Weil und Felix über den feinflockigen Agglutinationstypus als negativ hätte bezeichnen können.

3) Ein im Bakteriologischen Laboratorium neuerdings hergestelltes Typhus-Immunserum von einem Hammel verhielt sich in bezug auf Titerdifferenz und Absättigung wie die Kaninchen-Immunsera.

4) Nimmt man in Anlehnung an die Betrachtungsweise von Weil und Felix an, daß die bei der Absättigung der Esel-Immunsera mit den heterologen Kulturen zurückbleibende undeutliche Reaktion eine feinflockige Agglutinationsreihe für die homologen Stämme ist, so ergibt sich gegenüber den Befunden von Weil und Felix insofern ein Unterschied, als die für Gärtner und Typhus gemeinsamen Agglutinine als grobflockig und die für die beiden Stämme spezifischen Agglutinine als feinflockig zu bezeichnen wären. Beim Arbeiten mit Kaninchen-Immunseren hingegen stellen sich die spezifischen Agglutinine als grobflockig dar, wie es auch Weil und Felix angeben.

5) Wir sehen also, daß das gleiche Antigen bei den beiden in Rede stehenden Arten von Serumtieren, Kaninchen und Esel, ganz verschiedene Immunsera zu erzeugen vermag. Die Beschaffenheit der Immunagglutinine ist mithin in gewissem Ausmaße von dem Rezeptorapparat des Antigens unabhängig und wird wesentlich durch den Tierkörper mitbestimmt. Es scheint daher unmöglich, den grob- und feinflockigen Agglutinationstypus und die daraus sich ergebenden Unklarheiten des Castellanischen Absättigungsversuches lediglich durch den Rezeptorbau des Antigens erklären zu können.

6) Für die Differenzierung zwischen Typhus- und Gärtner-Kulturen haben sich in unseren Versuchen nur die Kaninchenimmunsera und das Hammelserum als praktisch brauchbar gezeigt, während die Eselsera keine zweifelsfreie Unterscheidung zuließen. In früheren Versuchen von Manteufel und mir hatte sich demgegenüber herausgestellt, daß das gleiche hier benutzte Gärtner-Eselserum zur Differenzierung zwischen Gärtner- und Paratyphus B-Kulturen sehr wohl geeignet war. Während die den Gärtner-Stämmen biochemisch sehr nahestehenden Paratyphus-B-Bazillen diesem Gärtner-Serum nur einen kleinen Teil der Agglutinine entziehen und grobflockige spezifische Agglutinine für die homologen Gärtner-Bazillen darin bestehen lassen, nehmen die den Gärtner-Bazillen biochemisch weniger nahestehenden Typhusbazillen aus dem Gärtner-Eselserum die Mehrzahl der Agglutinine heraus und lassen nur eine undeutliche kleinflockige Agglutination für die homologen Stämme bestehen, von der es mindestens noch zweifelhaft ist, ob es sich um das spezifische Agglutinationsphänomen handelt.

7) Praktisch ergibt sich aus diesen Untersuchungen die von Manteufel und mir bereits betonte Notwendigkeit, bei jedem für den Ca-

	Gärtner-Kaninchen-Immunserum			Gärtner-Esel-Immunserum			Typhus-Kaninchen-Immunserum			Typhus-Esel-Immunserum			Paratyphus B-Esel-Immunserum		
	Unabgesättigt	Abgesättigt mit Gärtnerstamm	Abgesättigt mit Typhusstamm	Unabgesättigt	Abgesättigt mit Gärtnerstamm	Abgesättigt mit Typhusstamm	Unabgesättigt	Abgesättigt mit Gärtnerstamm	Abgesättigt mit Typhusstamm	Unabgesättigt	Abgesättigt mit Gärtnerstamm	Abgesättigt mit Typhusstamm	Unabgesättigt	Abgesättigt mit Gärtnerstamm	Abgesättigt mit Typhusstamm
1. Bac. typhi abdom. Anna	10 000 ±	0	0	5000 +	0	0	10 000 +	5000 +	0	5 000 +	±?	0	500 +	0	0
2. „ „ B II	10 000 ±	0	0	5000 +	0	0	10 000 +	5000 +	0	5 000 +	±?	0	2 000 +	0	0
3. „ „ Detmold	500 ±	0	0	500 +	0	0	2 000 +	200 +	0	2 000 +	±?	0	500 +	0	0
4. „ „ Fürstenberg	1 000 ±	0	0	5000 +	0	0	10 000 +	1000 +	0	5 000 +	±?	0	1 000 +	0	0
5. „ „ Geppert	500 ±	0	0	2000 +	0	0	10 000 +	1000 +	0	2 000 +	±?	0	500 +	0	0
6. „ „ Gläwe	0	0	0	1000 +	0	0	5 000 +	500 +	0	2 000 +	±?	0	2 000 +	0	0
7. „ „ Goebel	5 000 ±	0	200 ±	5000 +	0	0	10 000 +	2000 +	0	5 000 +	±?	0	5 000 +	0	0
8. „ „ Herero	5 000 ±	0	0	5000 +	0	0	10 000 +	5000 +	0	10 000 +	±?	0	1 000 +	0	0
9. „ „ Hör I	2 000 ±	0	0	5000 +	0	0	5 000 +	1000 +	0	5 000 +	±?	0	200 +	0	0
10. „ „ Hör II	1 000 ±	0	0	5000 +	0	0	5 000 +	5000 +	0	5 000 +	±?	0	2 000 +	0	0
11. „ „ Huld	5 000 ±	0	0	5000 +	0	0	10 000 +	2000 +	0	5 000 +	±?	0	500 +	0	0
12. „ „ Kaufmann	5 000 ±	0	0	5000 +	0	0	10 000 +	2000 +	0	5 000 +	±?	0	1 000 +	0	0
13. „ „ Merkel	500 ±	0	0	2000 +	0	0	2 000 +	1000 +	0	2 000 +	±?	0	200 +	0	0
14. „ „ Renken	5 000 ±	0	0	5000 +	0	0	10 000 +	5000 +	0	10 000 +	±?	0	500 +	0	0
15. „ „ Sprung	500 ±	0	0	5000 +	0	0	0	0	0	5 000 +	±?	0	2 000 +	0	0
16. „ „ Stadler 441	5 000 ±	0	0	5000 +	0	0	10 000 +	2000 +	0	5 000 +	±?	0	2 000 +	0	0
17. „ „ Stolzenberg	500 ±	0	0	5000 +	0	0	5 000 +	2000 +	0	5 000 +	±?	0	1 000 +	0	0
18. „ „ W.	10 000 ±	0	0	5000 +	0	0	5 000 +	2000 +	0	5 000 +	±?	0	2 000 +	0	0
19. „ „ Waldhaus	10 000 ±	0	0	5000 +	0	0	10 000 +	2000 +	0	5 000 +	±?	0	200 +	0	0
20. „ „ II	5 000 ±	0	0	5000 +	0	0	5 000 +	5000 +	0	5 000 +	±?	0	500 +	0	0
21. „ „ III	5 000 ±	0	0	5000 +	0	0	10 000 +	2000 +	0	5 000 +	±?	0	200 +	0	0
22. „ „ IV	5 000 ±	0	0	5000 +	0	0	5 000 +	5000 +	0	5 000 +	±?	0	200 +	0	0
23. „ „ V	10 000 ±	0	0	5000 +	0	0	10 000 +	5000 +	0	5 000 +	±?	0	2 000 +	0	0
24. „ „ VI	500 ±	0	0	500 +	0	0	5 000 +	500 ±	0	10 000 +	±?	0	500 +	0	0
25. „ „ XIII	500 ±	0	0	2000 +	0	0	10 000 +	1000 +	0	5 000 +	±?	0	5 000 +	0	0

| | | |

stellanischen Versuch zu verwendenden Immunserum sich vorher von seiner Eignung für diesen Zweck durch Auswertung mit geeigneten Teststämmen zu überzeugen.

Literatur.

1) Castellani Ztschr. f. Hyg. Bd. 40. 1902. S. 1. — 2) Jürgens, Ztschr. f. klin. Med. Bd. 52. 1903. S. 78; Ztschr. f. Hyg. Bd. 43. 1903. S. 372 — 3) Vagedes, Klin. Jahrb. Bd. 14. 1905 S. 517. — 4) Potsuka, Ztschr. f. Hyg. Bd. 45. 1903. S. 115. — 5) Gaethgens, Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 40. 1906. S. 621.. — 6) Kruse, Ibid. Abt. I. Refer. Bd.38. 1906. S. 83. — 7) Liefmann, Münchn. med. Wochenschr. 1908. S. 156. — 8) d'Amato, Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 53. 1910. S. 337. — 9) Posselt u. von Sagesser, Wien. klin. Woch. Bd. 16. 1903. S. 691. — 10) Zupnick und Posner, Prag. med. Woch. 1903. S. 511. — 11) Bonhoff, Arch. f. Hyg. Bd. 50. 1904. S. 222. — 12) Rieux u. Secquepée, Compt. rend. soc. Biol. 1905. S. 151. — 13) Citron, Ztschr. f. Hyg. Bd. 53. 1906. S. 159. — 14) Lentz, Centralbl. f.. Bakt. Abt. I. Refer. Bd. 38. 1906. S. 63. — 15) Spät, Berl. klin. Woch. 1910, S. 775. — 16) Manteufel u. Beger, Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 87. 1921. S. 161. — 17) Lebram, Dtsch. med. Woch. 1909. S. 1722. — 18) Rehberg, Klin. Jahrb. Bd. 26. 1912. S. 417. — 19) Weil u. Felix, Ztschr. f. Immunitätsf. Bd. 29. 1920 S. 4. — 20) Weil u. Felix, Wien. klin. Woch. 1918. S. 986. — 21) Weil, Felix u. Mutzenmacher, Wien. klin. Woch. 1918. S. 1226. — 22) Gruschka, Ztschr. f. Immunitätsf. Bd. 30. 1920. S. 209. — 23) Schiff, Ibid. Bd. 33. 1922. S. 511. — 24) Sachs, Dtsch. med. Woch. 1918 Nr. 17.

Nachdruck verboten.

Zur Frage der Verwertbarkeit der Gruber-Widalschen Reaktion bei fieberhaften Erkrankungen, mit besonderer Berücksichtigung des Paratyphus-B.

[Aus dem bakteriologischen Laboratorium des Reservespitales in Steyr (1917). (Leiter des Laboratoriums: Dr. E. Klaften.)]

Von Dr. **E. Klaften,** Wien.

Die in Nr. 32 der Dtsch. med. Woch. von Curschmann veröffentlichte Arbeit über unspezifische Steigerung des Agglutinationstiters durch andersartige Infekte bei Typhusschutzgeimpften veranlaßt mich, eine zur Zeit des Weltkrieges an der Hand eines großen Materiales abgefaßte Studie zu veröffentlichen, da, wie mich die Veröffentlichung von Curschmann lehrte, der Gegenstand keineswegs überholt ist, und eine Reihe der von mir gefundenen Tatsachen sowohl vom epidemiologischen, wie auch vom experimentell-klinischen Standpunkte ein gewisses Interesse beanspruchen. Die Publikation behält ihre ursprüngliche, 1917 abgefaßte Form.

Das Material, das meinen Untersuchungen zugrunde lag, umfaßt Typhus- und Paratyphuskranke aus der Zeit der Ty-Epidemie in Steyr, die sich 1916 und 1917 aus einer Endemie entwickelt hatte.

Aus naheliegenden Gründen wurden alle fieberhaften Erkrankungen mit Ty-Verdacht ins Spital eingeliefert und so hatten wir Gelegenheit, ausreichende Erfahrungen über die Gruber-Widalsche Reaktion zu

sammeln. Besonders geeignet war für das Studium der Verwertbarkeit dieser Reaktion der Umstand, daß unser Material bakteriologische und serologische Untersuchungen sowohl gegen Ty.-geimpfter, als auch nicht geimpfter Patienten umfaßt. Dabei wurden ausschließlich die Fälle mit bakteriologisch oder serologisch gesichterter Diagnose verwertet; sei es, daß die Erreger im strömenden Blute oder in den Exkrementen nachgewiesen worden, oder sei es, daß die serologische Untersuchung ganz eindeutig verwertbar war. Bei nicht typhösen Erkrankungen wurde vor allem die klinische Diagnose berücksichtigt, wobei aber auch gleichzeitig bakteriologische und serologische Untersuchungen ausgeführt wurden und, wenn nötig, (Pneumonie), auch das Tierexperiment zur Sicherung der Diagnose herangezogen wurde.

Das Material umfaßt die zum Teil seit Beginn des Krieges mit der Kriegsmaterialerzeugung beschäftigte Mannschaft, die nie geimpft war, zum Teil Leute, die während des Krieges herkommandiert wurden, sowie Soldaten der hiesigen Garnison und Umgebung, bei denen mehrmalige Impfungen gegen Ty vorgenommen worden waren. So konnten wir in unseren Untersuchungen einerseits über die Bedeutung der Gruber-Widalschen Reaktion als diagnostischen Behelf bei Geimpften und nicht Geimpften Erfahrungen sammeln, andererseits die Bedeutung der Impfung für den Verlauf der typhösen Erkrankungen studieren.

Zur Zeit, da wir eine serienweise serologische Untersuchung der Patienten unseres Spitales mit Rücksicht auf die obige Fragestellung einführten, hatten wir neben anderen fieberhaften Erkrankungen vorwiegend solche mit Bact. paratyphi B. Unser Material umfaßt demnach auch hauptsächlich die serologischen Untersuchungen bei dieser Infektionskrankheit.

Wir wollen zunächst unsere Beobachtungen über Auftreten von Agglutininen und Mitagglutininen, gesondert bei den geimpften und nichtgeimpften Patienten dartun. Hier möge aber schon hervorgehoben sein, daß wir bei den verschiedenen Erkrankungsformen mit Paraty-B-Bazillen, deren wir nach Verlauf und Temperatur dreierlei unterscheiden, keine Unterschiede bezüglich des zeitlichen Auftretens der Agglutinine verzeichnen konnten. Da aber bei den geimpften Patienten, wenn die letzte Impfung nicht weit zurückliegt, Agglutinine bereits vorhanden sind, müssen wir, um über das wirkliche Auftreten von Agglutininen für die betreffende Erkrankung Aufschluß zu erhalten, jeweils die Zeit der letzten Impfung und die für das in Betracht kommende Stadium noch möglichen Titerwerte feststellen. Wir haben es bei der Betrachtung des Paratyphus B insofern einfacher, als die Agglutinine gerade für diesen Erreger nach unseren Erfahrungen bei den Impfungen am wenigsten in Betracht kommen.

Bei den gegen Typhus geimpften Personen hatten wir 2 Kategorien zu unterscheiden; die einen, die Agglutinine bloß für Typhus, die anderen, die solche für Typhus und Paratyphus A aufwiesen. Agglutinine für Paratyphus B als Folge der Impfung haben wir bei unseren Patienten nur selten beobachtet.

Bei den nichtgeimpften Personen konnten wir frühestens am 2. Krankheitstage eine serologische Untersuchung anstellen, die sich gewöhnlich an die Blutentnahme für die Bazillenanreicherung anschloß. In diesem Stadium konnten wir nie Agglutinine nachweisen. Erst vom 3. Krankheitstage angefangen, hatten wir Gelegenheit, Agglutinine zu beobachten. Die Werte für den Titer überschritten in der Regel

50 nicht, doch kamen auch schon gelegentlich Agglutinationen bis zu 100 vor. Ende der 1. Krankheitswoche sind Agglutinine schon fast in allen Fällen vorhanden, doch ist der Titer immer noch im Steigen begriffen. In der Rekonvaleszenz werden dann die höchsten Werte erreicht.

Bei nichtgeimpften Patienten, bei denen Nebenagglutinine vorhanden waren, konnten wir meist schon durch die Austitrierung zu einem brauchbaren Resultate gelangen. Die Mitagglutination sowie die Art derselben erwies sich nur in ganz beschränktem Maße von dem Krankheitstypus abhängig. So haben wir viele Fälle mit schwerem Verlauf und Komplikationen beobachtet, bei denen nur Agglutinine für Paratyphus B vorhanden waren.

In allen diesen Fällen konnten wir die von vielen Autoren gemachte Erfahrung bestätigen, daß es keineswegs angängig ist, eine gewisse Mindestgrenze der Gruber-Widalschen Reaktion für die Deutung im positiven Sinne festzustellen.

Bei unseren Fällen betrugen die Höchstwerte des erreichten Titers einige Hundert und mehr; in einigen Fällen waren jedoch die höchsten Werte 200—400, wobei die eben noch makroskopisch deutlich sichtbare Flockenbildung die Grenze bildete.

Bei nichtgeimpften Patienten wird der Arzt daher den Widal auch dann, wenn er nur geringe Titerwerte aufweist, meist schon als pathognomonisch bezeichnen können. Jedenfalls wird er gut tun, nach einigen Tagen eine Wiederholung der Reaktion vornehmen zu lassen, um sich von dem eventuellen Aufstieg des Titers zu überzeugen.

Anders liegen die Verhältnisse bei den geimpften Patienten. Da sind 3 Monate nach der letzten Impfung meist nur Agglutinine für Typhus in der Höhe der 50—400fachen Serumverdünnung nachweisbar; Agglutinine sowohl für Typhus als auch für Paratyphus A gehören zu den selteneren Fällen. Nach 6 Monaten sind die Agglutinine bereits bis auf 100 oder 50 zurückgegangen. In einigen Fällen konnten wir aber noch eine Agglutination in der 50—200fachen Serumverdünnung nach einer bis auf 1 oder 2 Jahre zurückliegenden Impfung beobachten.

Wenn die gegen Typhus geimpften Patienten schon in den ersten Tagen der Erkrankung, wo in der Regel noch keine Agglutinine gebildet werden, höhere Titerwerte aufweisen, so wird es sich meist um die Erhöhung derselben durch eine dem bei der Impfung angewandten Antigen homologe oder auch heterologe Reizeinwirkung handeln; letztere werden wir noch ausführlicher zu besprechen haben.

Die Erhöhung des Titers geimpfter Patienten als Folge homologer Reizeinwirkung würde bloß eine vermehrte Reaktionsgeschwindigkeit des Organismus in der Bildung von Agglutininen bedeuten.

Wenn wir bei nichtgeimpften Patienten jeden positiven Wert gegebenenfalls als pathognomonisch auffassen können, abgesehen von den nur ganz geringe Höhe erreichenden Normalagglutininen, so gilt das für geimpfte Patienten nicht mehr.

Wir wollen nun an der Hand einiger Fälle unsere Beobachtungen dartun.

Ein Fall betraf einen Ende Mai 1917 zum letzten Mal geimpften Patienten, der unter mäßiger Temperatursteigerung von remittierendem Typus am 5. 7. erkrankte. Es bestanden auch Durchfälle durch einige Tage, der Patient fühlte sich sonst recht wohl und hatte guten Appetit. Nach 6 Tagen genas er.

Die am 2. Krankheitstage angestellte Gruber-Widalsche Reaktion ergab Folgendes: Typhus 200 ++ +, Paratyphus A 200 ++ +, Paratyphus B 0; 6 Tage

hernach war der Widal auf der gleichen Höhe. Die Austitrierung ergab beide Male für Typhus Werte von 800, für A 400. Da klinisch weder Typhus noch Paratyphus A anzunehmen war, bakteriologisch in mehrmals vorgenommenen Untersuchungen kein Resultat erzielt werden konnte, bleib die Aetiologie dieses Falles unklar. Es ist wohl möglich, daß der ausgebreitete Bronchialkatarrh, der neben der unspezifischen Enteritis das Krankheitsbild beherrschte, das Fieber provozierte. Allerdings zeigt der Fall, wie schwierig sic hdie Beurteilung der Gruber-Widalschen Reaktion bei geimpften Patienten gestalten kann. Zur Erläuterung dieses Falles und anderer ähnlicher Fälle müssen wir die nach prophylaktischen Schutzimpfungen auftretenden Höchstwerte des Agglutinationstiters berücksichtigen.

In einem Falle, der 2 Tage nach Vornahme der 2. Typhusschutzimpfung wegen Fieber und Durchfall in die Anstalt kam, war der Widal für Typhus positiv bis 100, für Paratyphus A bis 200, für Paratyphus B negativ. Es handelte sich in diesem Falle um keine eigentliche Erkrankung, sondern bloß um die Allgemeinreaktion der Schutzimpfung. Nach 24 Std. waren auch sämtliche Erscheinungen abgeklungen.

In einem anderen Falle waren 7 Tage nach der letzten Impfung im Widal Werte von 200 für Typhus, 200 für Paratyphus A und keine Agglutinine für Paratyphus B vorhanden. Höhere Werte werden nach der Typhusschutzimpfung weniger oft erreicht.

In einem Falle, bei dem die Impfung nur 14 Tage zurücklag und bei dem klinisch Paratyphus B konstatiert wurde und auch die Gallenanreicherung des Blutes Paratyphus B-Bazillen ergab, betrugen die Agglutinationswerte bei der am Tage der Einlieferung vorgenommenen Widalschen Reaktion für Typhus 400 ++, A 800 +, B 50 +.

Hier ist es nun fraglich, ob die vorgefundenen Titerwerte bloß von der Schutzimpfung herrühren oder nicht. Wir neigen auf Grund unserer Untersuchungen der Ansicht zu, daß es sich in diesen Fällen um eine Erhöhung des Titers als Folge der vermehrten Reaktionsgeschwindigkeit unter Einwirkung der den Impfagglutinogenen artverwandten Infektionsagglutinogene handelt. Eine Bestätigung dafür sehen wir auch in dem schon am 2. Krankheitstage aufgetretenen Agglutinationswerte von 50 für Paratyphus B. Ebensowenig wie im letzterwähnten Falle, den wir als Fall Walchshofer protokolliert haben, können wir auch im vorerwähnten Falle behaupten, daß die gefundenen Agglutinationswerte bloß von der Impfung herrührten.

Wir hatten auch eine ganze Reihe von Patienten mit den mannigfachsten Erkrankungen, bei denen, wenn sie geimpft waren, die Titer während der Erkrankung, die ätiologisch mit keinem der Krankheitserreger, gegen die die Kranken geimpft worden waren, zusammenhing, beträchtlich anstiegen. Die mannigfachsten Reize können da den Agglutinationstiter erhöhen.

So seien hier vergleichshalber 2 Fälle von epidemischer Cerebrospinalmeningitis angeführt, von denen der eine geimpft war, der andere nicht; beim Nichtgeimpften waren weder zur Zeit der Erkrankung noch im Leichenblute Agglutinine für die Typhus-Paratyphusgruppe nachweisbar; der Geimpfte hatte einen positiven Widal für Typhus $^1/_{400}$, A $^1/_{200}$, B $^1/_{50}$. Die letzte Impfung lag 2 Monate zurück.

Daß also, abgesehen von Nebenagglutininen, die bei geimpften Personen mit Erkrankungen verwandter Erreger recht hohe Werte erreichen können, auch vorhandene Agglutinine durch heterologe Reize vermehrt werden können, möge hiermit betont sein.

Dies fällt besonders bei der Beurteilung der Gruber-Widalschen Reaktion am Krankenbette ins Gewicht.

Zur differentialdiagnostischen Beurteilung derartiger Ausfälle der Widalschen Reaktion haben wir uns mit Erfolg mehrerer einfacher

Methoden bedient. Wenn man bei Paratyphuskranken mit bestehender Mitagglutination oder in Fällen mit positivem Widal bei anderen Erkrankungen geimpfter Patienten nach einigen Tagen die Widalsche Reaktion wiederholt, so findet man, daß die Titerwerte die gleiche Höhe aufweisen, wie bei der vorhergehenden Untersuchung. Wir hatten unter unseren Fällen keine Ausnahme von dieser von uns als Norm angesehenen Erscheinung zu verzeichnen. Die Konstanz des Titers wird meist schon die richtige Deutung zulassen.

Man wird ferner in der Agglutinationsprobe bei derartigen Fällen die Maximalwerte berücksichtigen müssen.

Findet man, daß außer der Konstanz des Titers die Höhe des letzteren 400, höchstens 800 erreicht, so wird man eine weitere Unterstützung für die Beurteilung der Reaktion im nicht pathognomonischen Sinne haben. Denn gerade die vermehrte Reaktionsgeschwindigkeit in der Bildung von Agglutininen bei Geimpften bringt es mit sich, daß schon wenige Tage nach der Erkrankung Werte von 1600 und darüber erreicht werden, wenn in der Tat eine Infektion mit Erregern der Typhus-Paratyphusgruppe vorliegt.

Demgegenüber haben wir bei dem durch heterologe Reize erhöhten Impf-Widal Werte über 800 nicht gesehen. In der Mehrzahl der Fälle waren Werte von 400 die höchsten.

In der Norm wird man daher bei Geimpften Werte bis 800 bei klinisch nicht manifesten Erkrankungen noch nicht als pathognomonisch bezeichnen dürfen, wenn diese Werte bald nach der Erkrankung auftreten und ihre Maximal-Höhe erreichen, in mehreren Untersuchungen konstant bleiben und keine Tendenz haben, höher hinaufzugehen. Denn, wie erwähnt, liegen die Titerwerte für Erkrankungen Geimpfter mit Erregern der Typhus-Paratyphusgruppe bei 1600 und gehen in der Mehrzahl der Fälle darüber hinaus.

Der Paratyphus-B steht in dieser Hinsicht insofern abseits von anderen ihm verwandten Erkrankungen, da, wie bereits erwähnt, die Impfagglutinogene hier wenig in Betracht kommen und daher der für Paratyphus B positive Widal auch in geringen Werten bei geimpften Personen volle Berücksichtigung verlangt. Es handelt sich dann meist um eine vorliegende oder abgelaufene Infektion mit Paratyphus B-Bazillen.

Die Schwierigkeit der Beurteilung der Agglutinationsproben bei geimpften Patienten mit Paratyphus B-Erkrankungen liegt aber darin, daß man schon in den ersten Krankheitstagen Agglutinine für Typhus und Paratyphus A bis 200 oder 400 vorfindet, indes für Paratyphus B zur gleichen Zeit meist nur Werte von 50 vorhanden sind.

In Unkenntnis unserer Ausführungen könnte daher der Arzt auf Grund der Widalschen Reaktion und der in manchen Fällen klinisch vom Typhus oder Paratyphus A äußerst schwierigen Differenzierung des Paratyphus B zu einer irrtümlichen Diagnose gelangen, je nachdem ein höherer Titer für Typhus oder Paratyphus A besteht; denn die geringen Werte für Paratyphus B wird er als Mitagglutination unbegeringen Werte für Paratyphus B würde er als Mitagglutination unbeachtet lassen. Im Beginn der Erkrankung wird man aber — wie unsere Beobachtungen lehren — bei relativ höheren Titerwerten für Typhus oder Paratyphus A durch einen auch nur geringen Titer für Paratyphus B zur Vorsicht in der Diagnosestellung gemahnt. Nur wenn der Widal für Typhus oder Paratyphus A absolut hohe Werte er-

reicht, wird man den geringen Titer für Paratyphus B als bloße Mitagglutination auffassen können.

Wir hatten in unseren Fällen bei geimpften Patienten oft im Beginn der Erkrankung Werte von 200—400 für Typhus oder Paratyphus A der auch für beide Erkrankungen, indes für Paratyphus B nur Werte von 50 vorhanden waren. Und doch bestand klinisch Paratyphus B und konnten wir in der Gallenanreicherung des Blutes oder in den Exkrementen Paratyphus-B-Bazillen nachweisen, sowie nachher die Erhöhung des Agglutinationstiters bis 1600 und darüber verfolgen.

Die Möglichkeit, daß hohe Titerwerte für Typhus oder Paratyphus A im Verlaufe anderer Erkrankungen bei geimpften Patienten eine Mischinfektion oder aber eine vorangegangene abortive oder ambulante Infektionskrankheit anzeigen, kommt nur wenig in Betracht; bei der größeren Zahl der Fälle handelte es sich bloß um erhöhte Impfagglutinationswerte.

Wenn man den positiven Widal nicht geimpfter Patienten auch bei geringem Agglutinationstiter als den Beweis einer abgelaufenen Typhus- resp. Paratyphusinfektion ansehen darf, so gilt dies naturgemäß für geimpfte Personen nicht mehr. Dies ist wohl die wesentlichste Einschränkung der Bedeutung der Gruber-Widalschen Reaktion bei geimpften Patienten.

Der Arzt wird daher bei der Beurteilung des Widal geimpfter Personen stets die Zeit der letzten Impfung, die im Beginne der Erkrankung bestehenden Titerwerte und eventuell deren Konstanz und Maximalhöhe berücksichtigen müssen.

Viel wichtiger noch als die Steigerung vorhandener Titerwerte scheint uns zur Differenzierung derartiger Fälle das Abschwellen der durch artfremde Reizeinwirkungen erhöhten Impfagglutinationswerte im Vergleiche zu Erkrankungen mit der bei der Impfung angewandten Gruppe gattungsverwandten Erregern zu sein. Während bei letzteren in der Rekonvaleszenz die Titer im Ansteigen begriffen sind und ihre Höhe erreichen, schwellen sie dort bald nach der Entfieberung rapid ab, ein Umstand, welcher, wenn es nicht anders möglich war, oft nachträglich die volle Aufklärung über die Aetiologie des Falles oder zumindest über die Bedeutung der Gruber-Widalschen Reaktion verschafft.

Die rapide Abnahme des durch eine nicht homologe Erkrankung erhöhten Agglutinationstiters nach Typhusschutzimpfung kommt darin zum Ausdruck, daß diese Werte vom Tage der Entfieberung an gerechnet, also vom Beginn der Rekonvaleszenz, in wenigen Tagen, längstens innerhalb von 4 Wochen, auf ihre vor der Erkrankung bestandenen Werte zurückgehen. Auch ein gänzliches Verschwinden kann man in dieser Zeit gelegentlich beobachten.

Bei wirklich stattgehabten Infektionen mit Bacterium paratyphi B hingegen kommt es, ebenso, wie beim Typhus abdominalis, gerade erst in der Rekonvaleszenz zur Erreichung der Höchstwerte und findet man auch noch nach mehr als 4 Wochen bedeutende Agglutinationswerte. Die Abschwellungskurve zeigt hier im Gegensatze zur mehr steilen Kurve bei durch heterologe Reizeinwirkungen erhöhten Immunisierungswerten ein langsames, allmähliches Zurückgehen bis auf geringe Titerwerte. Man könnte hier von einem lytischen Abfall der Kurve sprechen.

Was nun die Mitagglutination bei Paratyphus B-Erkrankungen anbetrifft, so wollen wir hier unsere Ergebnisse in Zahlen zum Ausdruck bringen. Wir hatten unter 94 Paratyphus B-Erkrankungen in 41 Fällen eine Mitagglutination von Typhus und Paratyphus A, wobei bald die Agglutinine für den Ebertschen, bald die für den Schottmüllerschen Bazillus einen höheren Titer aufwiesen. In 27 Fällen bestand bloß Mitagglutination von Typhus, in 3 Fällen Mitagglutination nur von Paratyphus A. In 23 Fällen waren bloß Agglutinine für Paratyphus B vorhanden.

Das heißt in Prozenten ausgedrückt, daß die Mitagglutination von Typhus und Paratyphus A, die die häufigste war, bei 43,61 Proz. der Erkrankungen, die Mitagglutination des Typhus allein bei 28,72 Proz. und die des Paratyphus A allein nur bei 3,12 Proz. auftrat. Die Zahl der Fälle ohne Mitagglutination betrug 24,46 Proz. Die Verhältniszahlen stellen sich demzufolge bei unseren Fällen von Paratyphus B in bezug auf die Mitagglutination von Typhus und Paratyphus A wie 13:9:1. Wenn man die Fälle ohne Mitagglutination damit vergleicht, die an Zahl die 3. Stelle einnehmen, so bekommen wir ein Verhältnis von 13:9:7:1.

Um den Einfluß der Schutzimpfung und deren Bedeutung für die Beurteilung der Mitagglutination ersichtlich zu machen, geben wir im Folgenden die Verteilung der prozentuell festgesetzten Zahlen auf geimpfte und nichtgeimpfte Patienten wieder. Es waren unter den 41 Fällen mit Mitagglutination für Typhus und Paratyphus A 16 geimpfte und 12 ungeimpfte. Bei 13 von diesen Fällen konnten wir nicht mehr ermitteln, ob und wann eine Impfung stattgefunden hat. Immerhin sind unter den verbleibenden 28 Fällen mehr als die Hälfte Leute, die vor längstens 3 Monaten geimpft waren. Unter den 27 Fällen mit Mitagglutination von Typhus befanden sich 2 Geimpfte und 25 Ungeimpfte; von den ohne Mitagglutination verlaufenden Fällen waren sämtliche ungeimpft; von denen mit Mitagglutination für Paratyphus A waren alle 3 ungeimpft.

Für die Verläßlichkeit unserer Erhebungen über die Impfungen führen wir die Tatsache an, daß ein großer Teil der Patienten Fabriksarbeiter betraf, die nie geimpft waren, ebenso wie wir auch Fälle von Frauen und Mädchen hatten, bei denen sicherlich keine Impfung vorgenommen worden war; bei den Soldaten haben wir die Bestätigung der letzten Impfung auf der amtlichen Legitimationskarte und die Angaben des Mannes berücksichtigt.

Wir hätten also bei Ungeimpften meist bloß eine Mitagglutination von Typhus, an 2. Stelle Fälle ohne jegliche Mitagglutination, die nur Agglutinine für Paratyphus B aufwiesen und nur 3 Fälle mit Mitagglutination von Paratyphus A. Mitagglutination von Typhus und Paratyphus A betrifft die Mehrzahl der geimpften Patienten, aber auch nahezu 40 Proz. dieser Fälle entfallen auf Ungeimpfte.

Wenn wir uns bei der Erörterung der Mitagglutination bei geimpften Paratyphus B-Kranken dahin äußerten, daß die Mitagglutination auch in Werten bis 800 für Typhus resp. Paratyphus A nicht pathognomonisch ist, wiewohl wir auch die Eventualität einer früher durchgemachten Erkrankung hervorgehoben und daher die Mitagglutination bei Geimpften in den meisten Fällen als Folge der Schutzimpfung aufgefaßt haben, müssen wir bezüglich der Mitagglutination bei Ungeimpften noch einiges hinzufügen.

Wenn der Agglutinationstiter für Typhus oder Paratyphus A bei ungeimpften Paratyphus B-Kranken ziemlich hohe Werte erreicht, bis 800 und darüber, so ist in derlei Fällen stets die Möglichkeit einer überstandenen Erkrankung oder einer Doppelinfektion zu berücksichtigen. Bei geringeren Werten, die wohl differentialdiagnostisch keine Schwierigkeiten machen, wird man sich mit der Auffassung der Mitagglutination als Ausdruck verwandtschaftlicher Reizeinwirkung auf gleiche Zellkomplexe im Sinne einer Gattungsreaktion vorderhand begnügen müssen. Bei höheren Werten wird man die Möglichkeit einer Doppelinfektion nicht ganz von der Hand weisen können.

Bezüglich der maximalen Höhe des Agglutinationstiters bei Paratyphus B-Erkrankungen wäre weiter hervorzuheben, daß hier beträchtliche Schwankungen vorkommen. So viel steht auf Grund unserer Untersuchungen fest, daß die höchsten Werte bei rezidivierenden Paratyphus B-Erkrankungen erreicht werden.

Bezüglich der Titergrenze des mitagglutinierten Stammes sei hervorgehoben, daß dieselbe in der Mehrzahl der Fälle weit hinter der des krankheitsverursachenden Stammes zurückliegt. Mit dem Ansteigen des Titers für den letzteren steigt in der Regel auch der des mitagglutinierten Stammes. Die Schwankungen der Titer können unter Umständen Schwierigkeiten bereiten. In solchen Fällen ist stets die absolute Höhe des Titers für die in Betracht kommenden Stämme zu berücksichtigen. Wo die Titerwerte für 2 Stämme nur geringe Differenzen oder gleiche Höhe aufweisen, kann man auch mit Erfolg die Differenz des zeitlichen Auftretens der Agglutination bei Zimmertemperatur zu Hilfe ziehen, eine Beobachtung, auf die seinerzeit von O. Lentz hingewiesen wurde.

Endlich können wir auch in Fällen mit relativ hohen Werten für mitagglutinierte Stämme außer der Konstanz derselben die Abschwellungskurve differentialdiagnostisch zu Rate ziehen. Die Verhältnisse liegen da mit Bezug auf den mitagglutinierten Stamm ähnlich wie bei denen, wo heterologe Reize zur Erhöhung von Impfagglutinationswerten geführt haben. Ebenso wie wir dort die pathognomonische Bedeutung des nur durch gewisse Reize erhöhten Impf-Widals durch das Studium der Abschwellungskurve zurückweisen können, sind wir auch in Fällen von Mitagglutination imstande, letztere als solche festzustellen. Denn die Werte für den mitagglutinierten Stamm nehmen bald nach der Entfieberung rapid ab, während die Agglutinationswerte für den krankheitserregenden Stamm einen lytischen Abfall aufweisen. Wir haben auch einige Male beobachten können, daß der Titer des mitagglutinierten Stammes zu einer Zeit bereits seine Konstanz bekundete, indeß der für den eigentlichen Krankheitserreger noch anstieg. Ja, in 2 Fällen ging der Titer des mitagglutinierten Stammes sogar schon zurück, während für den Krankheitserreger die Agglutinationswerte noch anstiegen.

In selteneren Fällen kommt bei geimpften Patienten auch während einer der Typhus-Paratyphusgruppe nicht verwandten Erkrankung neben einer Erhöhung des Titers für Typhus und Paratyphus A auch eine Mitagglutination für Paratyphus B vor. Die Werte erreichen in derartigen Fällen höchstens 50—100 und gehen auch sehr rasch wieder zurück. Wir sahen dieses Verhalten gelegentlich bei einer akuten Appendicitis, bei Pneumonie und bei ausgebreiteter Tuberkulose. —

2 seltene Fälle mit abnormem Verhalten des Agglutinationstiters bei Paratyphus B-Erkrankungen mögen hier noch angeführt werden:

Daß es Fälle gibt, bei denen die Agglutinine erst sehr spät auftreten, ferner, daß manchmal überhaupt keine Agglutinine gebildet werden, ist bereits bekannt. Auch sind von manchen Autoren vereinzelte Fälle beschrieben worden, bei denen die Agglutinine eine ganz geringe Höhe erreichten, oder aber sehr bald aus dem Blute verschwunden waren. Die beiden von uns studierten Fälle sind auch geeignet, einen weiteren Beitrag zur Kenntnis dieser seltenen Vorkommnisse zu geben.

Beide Fälle betrafen Leute, die mehrmals geimpft waren. Der eine von ihnen, Fall W., kam 14 Tage nach der 2. Typhusschutzimpfung in unsere Anstalt. Er machte einen mittelschweren Paratyphus B durch, der einen überstürzten Verlauf aufwies. Im Widal, der am 2. Tage der Erkrankung vorgenommen wurde, waren für Typhus Agglutinine bis 400 ++, Paratyphus A 800 + und Paratyphus B 50 vorhanden. Auf Grund des Widal allein dürfte man nach unseren Darlegungen einen Paratyphus B vermuten. In der am selben Tage vorgenommenen Gallenanreicherung des Blutes wurden auch Paratyphus B-Bazillen nachgewiesen. Der klinische Verlauf war ein typischer, die Diagnose durch den Nachweis der Paratyphus B-Bakteriämie gesichert.

12 Tage hernach wurde abermals die Widalsche Reaktion angestelllt und ergab für Typhus 400 ++, Paratyphus A 800 +, Paratyphus B 0. Während die Agglutinationswerte für Typhus und Paratyphus A konstant geblieben waren, erfolgte für Paratyphus B eine auffallend rasche Abnahme des Agglutinationstiters in einer so kurzen Zeit.

Daß der Laboratoriumsstamm nicht für dieses Verhalten verantwortlich gemacht werden kann, konnten wir einwandfrei beweisen. Denn der Stamm wurde vom agglutinierenden Paratyphus-B Serum des Wiener serotherapeutischen Institutes mit dem Titer von 10000 bis 10000 agglutiniert. Auch das Serum eines anderen Patienten, der Paratyphus B durchgemacht hatte, das Serum Haydin, agglutinierte den Laboratoriumsstamm bis 2000 noch komplett.

Der Stamm, der aus dem Blute des Pat. gezüchtet wurde, erwies sich kulturell als echter Paratyphus B und wurde vom agglutinierenden B-Serum bis 10000, vom agglutinierenden Paratyphus A-Serum bis 8000 und vom Gärtner-Serum bis 5000 agglutiniert. Sämtliche Sera entstammten dem serotherapeutischen Institute in Wien.

Das Patientenserum agglutinierte den eigenen Stamm bis $^1/_{80}$ +; der Laboratoriumsstamm wurde demgegenüber bei einer Nachprüfung bis $^1/_{20}$ agglutiniert, bei $^1/_{30}$ nicht mehr. 2 andere Sera von Paratyphus B-Kranken agglutinierten den Laboratoriumsstamm auch in exquisit hohen Verdünnungen komplett.

So hätten wir im Falle W. ein Beispiel dafür, daß Agglutinine auch bei Paratyphus B-Infektionen nur ganz geringe Höhe erreichen und sehr bald schon innerhalb weniger Tage aus dem Blute verschwinden können.

Der 2. Fall betraf einen Fabrikarbeiter, der erst nach Ablauf der eigentlichen Erkrankung in unsere Anstalt gebracht wurde. Der Mann kam am 19. 7. ins Spital, nachdem er bereits 8—9 Tage mit Fieber, Kopfweh und Diarrhoen herum gegangen war. Der am 25. 7. vorgenommene Widal ergab Agglutinationswerte für Typhus 400 ++, Paratyphus B 160 +. Im Stuhle haben wir 3 Tage zuvor Paratyphus B-Bazillen nachgewiesen. Der gefundene Stamm wurde vom Krankenserum bis 1200 ++ agglutiniert.

Der am 4. 8. angestellte Widal ergab für Typhus 400 ++, Paratyphus A 1600 ++ und für Paratyphus B 0. Der eigene Stamm wurde diesmal bis 800 ++ agglutiniert.

Dieser Fall ist mit Bezug auf die Deutung der Gruber-Widalschen Reaktion etwas komplizierter. Die Tatsache, daß im Stuhle Paratyphus B-Bazillen nachgewiesen wurden, würde dafür sprechen, daß der Kranke einen Paratyphus B durchgemacht hat. Demgegenüber waren aber im Widal für Paratyphus B nur Agglutinine bis 160 + vorhanden, die auch sehr bald aus dem Blute verschwunden waren, indes für Paratyphus A Agglutinationswerte bis 1600 bestanden und der Grenztiter sicherlich damit noch nicht erreicht war. Der Widal allein würde für eine Infektion mit Paratyphus A sprechen.

Damit im Einklange steht auch die Tatsache, daß gerade zu derselben Zeit aus demselben Milieu mehrere Paratyphus A-Erkrankungen in die Anstalt aufgenommen wurden, nachdem bereits seit einigen Monaten kein einziger Fall vorgekommen war. Leider war es uns in diesem Falle nicht mehr möglich, die Bakteriämie nachzuweisen.

Es bliebe aber noch die Möglichkeit einer Doppelinfektion mit Paratyphus A- und Paratyphus B-Bazillen bestehen. Es wären dann in diesem Falle für den einen Erreger, den Paratyphus B, analog dem vorerwähnten Falle nur geringe Titerwerte bei einer bestehenden Infektion vorhanden, die auch sehr bald aus dem Blute verschwunden waren, indeß für den anderen Erreger, den Paratyphus A, die in der Regel vorkommenden Titerwerte erreicht wurden.

Wir müssen ferner die Frage des zeitlichen Verhältnisses beider Infektionen ins Auge fassen; ob es sich da tatsächlich um die zeitliche Koinzidenz zweier Infektionskrankheiten im Sinne einer Doppelinfektion handelte, oder aber ob die beiden Infektionen zeitlich auseinander lagen. Der Widal würde für letztere Annahme sprechen. Wir hätten dann den Fall als einen Paratyphus A aufzufassen bei einem Pat., der einen Paratyphus B durchgemacht hatte und bei dem die Agglutinine für letzteren bereits im Zurückgehen begriffen waren.

Der Paratyphus B-Stamm, den wir aus dem Stuhle gezüchtet haben, wurde vom Krankenserum im Gegensatz zum Laboratoriumsstamme, der nur bis 160 agglutiniert wurde, bei 1200 noch deutlich agglutiniert.

Der Stamm selbst verhielt sich kulturell analog dem echten Paratyphus B und wurde vom agglutinierenden Paratyphus B-Serum bis 10000, vom Paratyphus A-Serum bis 8000 und vom Gärtner-Serum bis 5000 agglutiniert. Dieser Stamm wurde, wie erwähnt, vom eigenen Serum des Patienten bei 1200 noch deutlich agglutiniert.

Es liegt hier sicherlich an der Artverschiedenheit des Stammes, daß das Patientenserum ihn so hoch agglutinierte, während es für den Laboratoriumsstamm und einen anderen Stamm, mit dem ebenfalls die Agglutination vorgenommen wurde, so geringe Werte aufwies. Auch das Serum zweier anderer Paratyphus B-Kranker agglutinierte diesen Stamm nicht so hoch, wie den Laboratoriumsstamm.

Nach mehrmaligem Ueberimpfen wurde der gefundene Paratyphus B-Stamm kaum bis zur Hälfte des verlangten Titers agglutiniert.

Zusammenfassung.

1) Die wesentlichste Einschränkung der Gruber-Widalschen Reaktion bei Geimpften besteht darin, daß Agglutinationswerte für Typhus oder Paratyphus A bei klinisch nicht manifesten Infektionserkrankungen auch in Werten von 400—800 weder als pathognomonisch, noch als Beweis einer abgelaufenen Infektion angesehen werden dürfen. Sie sind als Ausdruck der Titererhöhung vorhandener Impfagglutinine aufzufassen, die sowohl durch eine den Impfagglutinogenen homologe, als auch heterologe Reizeinwirkung bedingt sein kann.

2) Demgegenüber verlangt ein auch nur geringer Titer für Paratyphus B bei gegen Typhus geimpften Patienten meist volle Berücksichtigung. Die Titerhöhe ist, ebenso wie bei nicht geimpften Paratyphus B-Kranken, für die Deutung der Reaktion im pathognomischen Sinne keineswegs maßgebend.

3) Die durch verschiedene Reize erhöhten Impftiter sind durch Konstanz, geringe Maximalhöhe und insbesondere durch die steile Abschwellungskurve charakterisiert.

Nachdruck verboten.

Ein Beitrag zur Bakteriologie und Klinik des Paratyphus A.

Von Dr. **E. Bumke.**

Mit 5 Abbildungen im Text.

Der folgende Aufsatz ist eine Beobachtung aus dem Kriege während meiner Tätigkeit als Bakteriologe und Arzt der Bazillenträgerstationen im Kaiserl. Militärgenesungsheim Spa (Belgien). 1919 hat der Chef des Feldsanitätswesens aus dienstlichen Gründen die Genehmigung zur Drucklegung während des Krieges nicht erteilt. Nach Durchsicht der Literatur bis 1923 erscheint sie mir auch heute noch der Veröffentlichung für wert.

Typhoide Erkrankungen, bei denen als Erreger der Paratyphus A-Bazillus nachgewiesen ist, sind an der Westfront bekanntlich seit Mitte 1915 beobachtet worden und haben dann eine wesentliche Rolle gespielt. Spa war ein Genesungsheim für Typhus- und Ruhrrekonvaleszenten, die dort aus dem nördlichen Teil unserer Westfront zusammenkamen. Ich habe unter diesen eine ganze Reihe von Paratyphus A-Bazillenträgern beobachten können, über die ich noch a. a. O. berichten werde. Hier sollen vorläufig die bemerkenswerten Befunde bei einem chronischen Urinausscheider mitgeteilt werden. Zunächst ein Auszug aus seiner Krankengeschichte:

Pat. 790 ,Ldstm. O. F., 40 Jahre alt. Bürgerlicher Beruf: Weber. Diensteintritt: 4. VIII. 15.

9. IV. 16. Aufnahme im Feldlazarett. Pat. hat angeblich seit 14 Tagen Fieber und rheumatische Beschwerden. Seit 2 Tagen ist er revierkrank und wird mit 40,1° Temperatur eingeliefert. Er klagt heute über Kopfschmerzen, Brechen und Müdigkeit.

Zunge stark belegt, Gaumen frei. Ueber den Lungen r. h. u. feinstes Knistern ohne Dämpfung. Leib weich. Milz nicht palpabel. Temp. vergl. Fig. 1.

10. IV. 3mal tgl. 2 Tabl. Aspirin.

11. IV. Auswurf schleimig-eitrig. Lungenbefund unverändert. Milz nicht palpabel. Blut, Stuhl und Urin zur bakteriologischen Untersuchung.

12. IV. Ueber den Lungen an mehreren Stellen vereinzelt feinstes Knistern ohne Dämpfung. Pat. bekommt abends Aspirin oder Pyramidon.

14. IV. Stuhl- und Urinuntersuchung negativ.

15. IV. Pat. klagt über starke Kopfschmerzen. Ueber den Lungen spärliche Geräusche. Milz nicht palpabel, auch perkutorisch nicht vergrößert.

Im Blut vom 11. IV. sind Paratyphus A-Bazillen gefunden worden.

17. IV. Aufnahme im Kriegslazarett.

18. IV. Andauernd remittierendes Fieber, mäßige Kopfschmerzen. Ueber den Lungen spärliche katarrhalische Geräusche. Im Urin Eiweiß und Diazo negativ.

23. IV. Im Urinsediment keine Formelemente. Puls vorübergehend klein, nach Digalen gebessert. Mittags wiederholt Schüttelfrost.

30. IV. In der letzten Woche Temp. im Allgemeinen unter 37° mit gelegentlichen Anstiegen. Stuhlverstopfung.

4. V. Im Urin Eiweiß positiv.

9. V. Pat. ist, von gelegentlichen Anstiegen abgesehen, fieberfrei, und hat keine Beschwerden. Im Urin kein Eiweiß und kein Sediment.

11. V. Urin eiweißfrei.

13. V. Aufnahme in einem zweiten Kriegslazarett.

14. V. Zunge kaum belegt. Herz und Lungen o. B. Milz perkutorisch vergrößert. Stuhl gebunden, regelmäßig. II. Form, Bettruhe.

17. V. Der gleiche Befund. Keine Klagen. Pat. steht auf.

20. V. Zunge nicht belegt. Milz noch perkutierbar. Leib nicht aufgetrieben, nicht druckempfindlich. Stuhl regelmäßig, fest.

Im Urin vom 19. und 24. V. Paratyphus A-Bazillen.

5. 6. Aufnahme ins Genesungsheim. Pat. klagt über Atembeschwerden und Schmerzen in der rechten Brustseite, sowie über ein Blasenleiden, von dem er fast jährlich beiallen wird.

Ernährungs- und Kräftezustand gut. Puls im Stehen 84, nach 6 Kniebeugen 98, nach 5 Min. Ruhe 80. Seh- und Hörvermögen herabgesetzt. Sonst kein besonderer Befund an den inneren Organen. Appetit angeblich schlecht, Schlaf unregelmäßig. Stuhl verstopft. Urin frei von Eiweiß und Zucker. An beiden Beinen mittelstarke Krampfadern.

14. VI. Pat. klagt über Schmerzen im r. Hoden. Ein Befund ist hier nicht zu erheben. Puls regelmäßig 96.

21. VI. Pat. muß angeblich alle 10 Min. Wasser lassen und hat dabei ein brennendes Gefühl. Der Drang zum Urinieren ist beständig. Puls 108.

23. VI. Verlegung zur Nervenstation. (Oberarzt Dr. Serog.)

25. VI. Nervenbefund. Pat. klagt über Mattigkeit in den Beinen und Unmöglichkeit, den Urin zu halten. Die Urininkontinenz besteht schon seit 10 Jahren, ist aber angeblich in letzter Zeit schlimmer geworden. Mit 19 Jahren Tripper, sonst nie krank. Pat. ist verheiratet, hat drei gesunde Kinder; nach dem dritten hatte seine Frau eine Fehlgeburt.

Pupillen normal geformt, die rechte etwas weiter als die linke; Lichtreaktion bds. +, rechts etwas träger als links. P. S. R. und A. S. R. bds. lebhaft +, kein Fußklonus, kein Babinski, kein Oppenheim, kein Romberg; auch Stehen bei geschlossenen Augen gut möglich. Keine Sensibilitätsstörungen, insbesondere keine Störungen der Lage und Bewegungsempfindlichkeit. Keine Mammillarzone, keine Ataxie.

27. VI. Im Urin vom 22. VI. wiederum Paratyphus A-Bazillen.

Verlegung zur Bazillenträgerstation (Oberarzt Dr. Frhr. v. Teubern).

29. VI. Pat. klagt über Brennen beim Wasserlassen im hinteren Teil der Harnröhre und Kreuzschmerzen. Stuhlgang i. O. Allgemeinzustand gut, ziemlich starke Adipositas. Zunge frei. Herz und Lunge o. B. Puls 92, mittlere Füllung und Spannung der Arterie. Leib weich. Leberrand fühlbar und druckempfindlich. Gallenblasengegend nicht druckempfindlich. Milz nicht fühlbar. Gegend der Nieren und Harnleiter druckempfindlich. Urin frei von Eiweiß und Zucker.

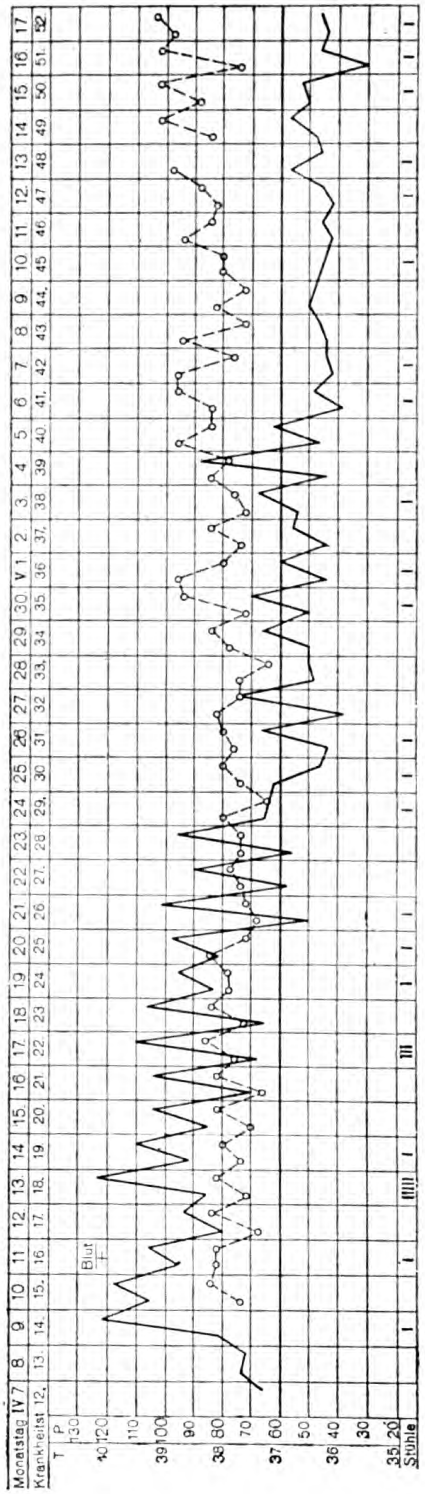


Fig. 1.

2. VII. Pat. hat eine Urethritis. Im Abstrich von dem morgenlichen Sekrettropfen finden sich vereinzelt Leukocyten, zahlreiche Coccen, meist zu zweien hintereinander, nie intracellulär gelegen, und vereinzelt Stäbchen.

4. VII. Im Urinsediment reichlich Leukocyten, keine Cylinder. Pat. scheidet fast regelmäßig Reinkulturen von Paratyphus A-Bazillen mit seinem Urin aus. (vergl. Tab. I.)

Im Abstrich vom Harnröhrensekret werden durch Galleanreicherung Paratyphus A-Bazillen nachgewiesen.

9. VII. Abstrich von Harnröhrensekret: keine Leukocyten, viel Schleim und Fibrin; reichlich Stäbchen und Diplokokken, aber keine Semmelformen.

17. VII. Im Harnröhrensekret werden durch Galleanreicherung wiederum Paratyphus A-Bazillen nachgewiesen.

18. VII. Rektaluntersuchung ergibt eine wesentliche Vergrößerung und Druckempfindlichkeit der Prostata. Nach Massage werden einige Kubikzentimeter Urin untersucht.

Aussehen: trübe mit einzelnen weiß-grauen Flocken.

Mikr. im ungefärbten Präparat zahlreiche Leukocyten, vereinzelt große Blasenepithelien und kleine, ziemlich zerstörte, cylindrische Epithelien. Im gefärbten Präparat (Methylenblau) reichlich zellige, vielfach im Verfall begriffene Elemente: meist polynukleäre Leukocyten, daneben wohl einige Epithelzellen. An Bakterien vereinzelt Stäbchen, dazwischen einzelne Coccen, die gelegentlich auch zu zweien liegen, aber nie Semmelform zeigen.

Auf Endo wachsen zahlreiche typische Paratyphus A-Keime.

26. VII.—29. VIII. Täglich Spülungen der hinteren Harnröhre und Blase mit 0,3 Proz. Höllensteinlösung und Prostatamassage. Belladonna-Zäpfchen.

2. VIII.—5. IX. Urotropin, 2—4 gr. tgl.

9. VIII. Blutentnahme. Bestimmung des Agglutinationstiters des Patientenserums: Paratyphus A 1:1600, Typhus, Paratyphus B, Enterit. Gärtner und Pseudodysenterie Y negativ.

17. VIII. Bakteriologische Untersuchung des Harnröhrensekretes nach Prostatamassage negativ.

29. VIII. Die Schmerzen in der Harnröhre sind besser geworden, es besteht aber noch vermehrter Harndrang und häufig Rückenschmerzen in der Gegend der Nieren.

Blasengegend druckempfindlich. Prostata wesentlich kleiner geworden, die seitlichen Partien sind noch druckschmerzhaft. Nach Massage der Prostata ist der Urin etwas getrübt, Fäden sind nicht vorhanden. Der rechte Hoden ist noch leicht geschwollen, sein unterer Pol druckempfindlich.

Urin eiweißfrei. Im Sediment Schleim, massenhaft Leukocyten, Epithelien, harnsaure Salze, keine Erythrocyten, keine Cylinder.

5. IX. Beim Wasserlassen keine Schmerzen mehr, wohl aber beim Stuhlgang. Hintere Harnröhre noch lebhaft druckempfindlich. Sekret läßt sich nicht mehr ausstreichen.

Die Urotropintherapie wird als erfolglos abgebrochen. Die Dauerausscheidung von Paratyphs A-Bazillen im Urin hält regelmäßig an.

6. IX. Nach Katheterismus wird die Blase mehrmals mit 0,3 Proz. Kal. permangan. gespült und ein Dauerkatheter eingelegt. In sämtlichen, alle 2 Std. abgelassenen Urinproben sind Reinkulturen von Paratyphus A-Bazillen vorhanden.

9.—30. IX. Salol, 4mal 1 Messerspitze.

30. IX. Die Bazillenausscheidung bleibt unbeeinflußt bestehen.

Regelmäßige Untersuchungen des Harns auf Eiweiß sind stets negativ gewesen. Regelmäßige Blutdruckmessungen (Recklinghausen) ergeben Werte zwischen 145 und 165.

1.—20. X. Urotropin, 1—3 gr tgl.

10. X. Erneute Austitrierung des Patientenserums: Paratyphus A, auch mit dem eigenen Stamm des Pat. 1:1600, Typhus, Paratyphus B, Enterit. Gärtner, Pseudodysenterie Y negativ, Dysenterie Shiga 1:100.

20. X. Die Schwellung und Schmerzhaftigkeit des rechten Hodens ist fast völlig verschwunden. Die Prostata ist kaum mehr vergrößert. Pat. klagt über ziehende Schmerzen, die von den Beinen nach hinten oben ausstrahlen.

über ziehende Schmerzen, die von den Beinen nach hinten oben ausstrahlen.

Während der Urotropinbehandlung läßt sich regelmäßig bei dem Pat. nach der Jorissenschen Methode Formaldehyd nicht nachweisen. Die Kur wird als erfolglos abgebrochen.

9. XI. Die Urinausscheidung besteht unverändert weiter. Es wird eine Behandlung mit einer Kupfer-Eiweißverbindung der Troponwerke eingeleitet, bald aber wieder abgebrochen, weil Pat. zur Entlassung bestimmt ist.

14. XI. Pat. hat keine Beschwerden mehr, gelegentlich etwas Kreuzschmerzen. Die Schmerzen in der Harnröhre treten nur noch zeitweise in wesentlich geringerer Weise auf. Nierengegend bds. druckempfindlich. Alb. dauernd negativ, im Sediment vereinzelt Leukozyten.

2. XII. Abtransport als chronischer Dauerausscheider in ein Heimatlazarett.

Die Krankengeschichte zeigt uns also, wenn wir zunächst das klinische Bild ins Auge fassen wollen, einen mittelschweren Fall von Paratyphus A. Diese Diagnose ist durch den Nachweis der Krankheitserreger im Blut des Patienten auf der Fieberhöhe gestellt werden; klinisch war nur ein dürftiger typhoider Symptomenkomplex ohne jede Besonderheit vorhanden. Die Erkrankung begann mit rheumatoiden Beschwerden, Fiebergefühl, bald traten Müdigkeit, Kopfschmerzen und Erbrechen hinzu. Objektiv ließ sich im Lazarett zunächst nur eine belegte Zunge und eine Bronchitis feststellen. Die Milz war anscheinend die ganze Fieberperiode hindurch nicht tastbar, erst in der Rekonvalenszenz wurde sie als perkutorisch vergrößert bezeichnet. Von der Fieberkurve fehlen die ersten 12 Tage, an denen der Patient auch schon krank gewesen sein will. Während der Beobachtung im Lazarett steigt die Kurve von Werten um 37,5° auf 40,1°, fällt dann langsam, um vier Tage später wieder auf 40,2° zu steigen. Eine eigentlich Continua fehlt also, denn von da an fällt die Temperatur ganz allmählich in Form von immer wieder leicht ansteigenden Wellen. Betrachtet man die Fußpunkte der einzelnen Fieberzacken während der Lyse, so kann man etwa fünf derartige Wellen unterscheiden. Goldscheider und Kroner haben diese Kurvenform als typisch für den Typhus bei Schutzgeimpften beschrieben; dieser Fall zeigt, daß auch bei anderen typhoiden Erkrankungen das gleiche Bild auftreten kann. Der Puls ist wie beim echten Bauchtyphus während des Fiebers relativ verlangsamt; gegen das Ende der Lyse wird er einmal klein, bessert sich aber nach Digalen sofort. In der Rekonvaleszenz tritt dann eine mäßige Tachykardie auf, die ziemlich lange anhält. Der Stuhl ist dauernd leicht verstopft, nur an 2 Tagen sind 2 bzw. 3 Stühle notiert. Von sonstigen typhösen Symptomen fehlen, abgesehen von der schon als nicht beobachtet erwähnten Milzschwellung, noch vor allem die Roseolen, die Auftreibung und die Druckschmerzhaftigkeit des Bauches, die Diazoreaktion und die Albuminurie. Auch von einer Benommenheit des Patienten ist nichts erwähnt. Trotz dieser Symptomenarmut muß man aber den Fall seiner fast sechswöchigen Fieberdauer wegen immerhin als mittelschwer bezeichnen.

Die Rekonvaleszenz ist dann klinisch durch das Auftreten von verschiedenen **Krankheitserscheinungen am Urogenitalsystem** und bakteriologisch durch die Dauerausscheidung von Paratyphus A-Bazillen im Urin ausgezeichnet. Bereits die letzte Fieberzacke am 4. Mai möchte ich als hierzu gehörig bezeichnen. Eine am gleichen Tage vorgenommene Urinuntersuchung ergab nämlich einen positiven Eiweißbefund, den einzigen während der langen Beobachtungszeit, trotz häufiger Untersuchungen. Am 16. Juli wurde dann noch einmal ein derartiger plötzlicher Temperaturanstieg beobachtet, ohne weitere klinische Erscheinungen. Diese Befunde, zusammen mit den häufig vom Patienten geklagten Kreuz-

schmerzen und der Druckempfindlichkeit der Nieren und Harnleiter, sprechen für das Vorhandensein einer Pyelitis.

Paul Krause hat bereits 1916 auf der Warschauer Tagung diese Erkrankung als häufige Ursache der Urinausscheidung von Typhusbazillen bezeichnet. Er betont, daß sie „außerordentlich langsam und symptomenarm" verläuft, ähnlich den Arten der Nierenbeckenentzündung der Frauen nach dem Puerperium."

Bald nach dem Auftreten der pyelitischen Erscheinungen wird die Bakteriurie festgestellt, die dann sehr lange anhält; ich werde darauf noch näher zu sprechen kommen. Dann treten aber weitere Erscheinungen am Urogenitalsystem auf, die zeigen, daß die Paratyphus A-Bazillen sich noch an anderen Stellen festgesetzt haben. Zunächst flackert ein Blasenkatarrh auf, an dem der Patient seit etwa 10 Jahren alljährlich leidet. Er klagt über starken Tenesmus und Brennen beim Wasserlassen, den Schmerz verlegt er in den hinteren Teil der Harnröhre. Objektiv finden sich dauernd reichliche Mengen von Leukozyten im Urinsediment, nicht aber Erythrozyten und Zylinder. Bald gesellt sich dazu eine Urethritis; ein vor 20 Jahren erworbener Tripper scheint wieder aufgewacht zu sein. Jedoch können mehrere bakteriologische Untersuchungen Gonokokken nicht nachweisen, es lassen sich aber aus dem Harnröhrensekret durch Galleanreicherung mehrmals Paratyphus A-Bazillen züchten. Eine Rektaluntersuchung stellt auch eine Prostatitis fest; in dem ausgepreßten Sekret sind gleichfalls nur diese Krankheitserreger nachweisbar. Schließlich ist noch mehrmals im Krankenblatt eine Schwellung und Schmerzhaftigkeit des rechten Hodens erwähnt. Die Paratyphus A-Bazillen haben also auch eine Orchitis hervorgerufen, die freilich nur in leichter Form auftritt.

Der Paratyphus A-Bazillus ist als Entzündungserreger an den Harn- und Geschlechtsorganen bisher nur sehr selten beschrieben worden. Das ist aber auch selbstverständlich, da er vor dem Kriege bei uns fast garnicht gefunden ist, und in den tropischen und subtropischen Ländern, wo er der hauptsächlichste Erreger des dortigen Typhus zu sein scheint, nur selten bakteriologische Untersuchungen vorgenommen werden. Der Fall, an dem Brion und Kayser den Paratyphus A-Bazillus entdeckt haben, ähnelt dem meinen in gewisser Beziehung: bei einem 16jährigen Mädchen, das kurz vorher eine Gonorrhoe durchgemacht hatte, wurde bei einem neuen Fieberanstieg das Stäbchen im Blut, in einer Roseole, im Urethral- und Vaginaleiter und im Urin nachgewiesen; Gonokokken waren im Harnröhrensekret jetzt nicht mehr aufzufinden. Auch die übrigen Bakterien der Typhusgruppe sind bereits im Urethraleiter gefunden worden. So beschreibt Knauth einen Fall von Urethritis mit Paratyphus B-Bazillenbefund. Der Patient hatte kurz vorher eine als Grippe gedeutete Erkrankung durchgemacht. Neuerdings macht Saphier auf Grund von zwei mit Orchitis komplizierten Fällen wieder auf die Urethritis acuta typhosa aufmerksam. Eine Pyelitis paratyphosa A beschreibt F. Löwenthal. Der Paratyphus A-Bazillus entspricht eben auch hierin vollkommen dem Typhusbazillus, der in allen diesen Herden bereits nachgewiesen ist, wenn auch diese Befunde an sich ziemlich selten sind. Am häufigsten scheint noch die Orchitis zu sein; Kutscher erwähnt in seiner Bearbeitung des Typhus im Kolle-Wassermann eine ganze Reihe von Beobachtungen. Ich verfüge aus unserem Spaer Material über vier weitere derartige Fälle; einmal wurden Typhus- und dreimal Paratyphus B-Bazillen in Punktaten aus entzündeten und vereiterten Hoden nachgewiesen. Takaki und Werner haben eine Vereiterung der Bartholinschen Drüsen mit Typhusbazillenbefund beschrieben. L. Pick hat unter 18 männlichen Typhusleichen zweimal eitrige Spermatocystitis und Prostatitis allein durch Typhusbazillen gefunden und macht besonders auf die appendikulären Apparate der ableitenden Harnwege als Genese der Urininfektion aufmerksam. Auch Marchildon konnte im Eiter einer Prostatitis und einer Spermatocystitis Typhusbazillen nachweisen.

In unserem Falle konnte also eine Pyelitis und Cystitis, eine Urethritis und Prostatitis und ein Orchitis paraty-

phosa A als Grundlage der chronischen Urinausscheidung festgestellt werden. Im Urethraleiter, der ja auch aus der Prostata stammen kann, sind mehrmals Paratyphus A-Bazillen nachgewiesen worden. Daß aber neben diesen beiden Herden auch die Blase bzw. das Nierenbecken als Grundlage der Bazillenausscheidung in Betracht kommt, beweist der Versuch vom 6. XI., der oben in der Krankengeschichte bereits mitgeteilt ist. Nach Desinfektion der Blase bleibt der Katheter liegen; der alle 2 Stunden abgelassene Urin enthält trotzdem Reinkulturen von Paratyphus A-Bazillen. Diese mußten also aus der Blase bzw. den Nieren stammen, nicht nur aus der Harnröhre bzw. Prostata. Die Orchitis führte nicht zur Vereiterung, es bestanden nur mehrmals Schwellungen des Hodens; die Krankheitserreger konnten deshalb hier nicht nachgewiesen werden.

Literaturstudien der Nachkriegszeit haben mich davon überzeugt, daß als Grundursache der Dauerausscheidung mit dem Urin allein spezifische Nierenabszesse in Betracht kommen. Ein ausführlicher Aufsatz über diese Frage wird demnächst erscheinen. Dann wären also die Lokalisationen der Krankheitserreger im vorliegenden Falle sekundäre Infektionen von den Nieren aus; die Krankengeschichte spricht durchaus für diese Auffassung.

Die **Dauerausscheidung im Urin** hielt etwa 10 Monate, genau 295 Tage, seit Beginn der Erkrankung, an. Die Paratyphus A-Bazillen wurden freilich erst in der Rekonvaleszenz, am Ende des zweiten Monats, festgestellt. In der Tab. I sind sämtliche bakteriologischen Untersuchungen zusammengestellt. 5 Monate war der Patient in meiner Beobachtung. Während dieser Zeit wurden Stuhl und Urin meist alle 2 Tage untersucht. Ich habe auch stets ungefähr die Menge der ausgeschiedenen Bazillen bestimmt: +++ bedeutet Reinkultur von zahlreichen Kolonien, ++ reichlich, + spärlich Keime und — keine Paratyphus A-Bazillen. Die Ausscheidung war also stets eine sehr reichliche, wie ein Blick auf die Tabelle zeigt.

Urinbazillenträger sind vor dem Kriege nur wenig beobachtet worden. Man hat sie relativ selten gefunden; es sind deshalb meist nur einzelne Fälle beschrieben worden. Die meisten Beobachtungen beziehen sich natürlich wieder auf den Typhus. Prigge hat an dem großen Material der Typhusbekämpfung im Südwesten Deutschlands nur bei 23 Patienten positive Urinbefunde angegeben. Von diesen waren 16 temporäre Bazillenträger mit nur einem positiven Befund, und nur drei schieden die Bazillen über ein Jahr lang aus. In der Literatur findet sich in einzelnen Fällen eine Ausscheidung von Typhusbazillen bis 10 Jahre lang beschrieben. Beim Paratyphus B sind die bisherigen Befunde einander widersprechend. So schreibt Schottmüller in seiner Bearbeitung der typhösen Erkrankungen in dem neuen Handbuch der inneren Medizin, daß es vor allem Patienten mit einer Infektion der Harnwege sind, die als chronische Bazillenträger zu gelten haben, viel seltener Stuhlausscheider. Im Gegensatz dazu erwähnt Rimpau, der über den Paratyphus in der organisierten Typhusbekämpfung berichtet, nur vereinzelte temporäre Urinausscheider und gelegentliche Befunde im Harn bei Stuhlausscheidern, die er auf Verunreinigung des Harns bei der Entleerung zurückführt. Paratyphus A-Urinausscheider sind bisher überhaupt noch nicht beschrieben worden; während der Erkrankung jedoch haben verschiedene Autoren im Harn Paratyphus A-Bazillen nachgewiesen. Alle diese Befunde decken sich nicht mit unseren Beobachtungen an dem reichen Material im Genesungsheim Spa. Ich habe dort viele Typhus-, Paratyphus B- und A-Urinausscheider beobachtet, über die a. a. O. noch ausführlich berichtet werden soll.

Wie schon die Tab. I zeigt, hat der Patient fast stets Reinkulturen von Paratyphus A-Bazillen in seinem Harn ausgeschieden. Ich habe mit der üblichen Plattenmethode häufig die Menge der Bazillen

Tabelle I.

Uebersicht über die bakteriologischen Untersuchungen.

Datum	Stuhl	Urin	
[11. 4. 16	.	.	Blut +
13. 5.	—	.	
14. 5.	—	.	
15. 5.	—	—	
19. 5.	.	+	
24. 5.	.	+	
25. 5.	—	.]	
		Aufnahme im Genesungsheim	
22. 6.	—	+	
24. 6.	—	+++	
29. 6.	—	+	Urin auch Parat.-B-Bazillen
30. 6.	—	+++	
4. 7.	—	+++	Urethraleiter +
6. 7.	—	+++	
10. 7.	—	+++	
12. 7.	—	+++	
14. 7.	—	+++	
16. 7.	—	+++	
17. 7.	.	.	Urethraleiter +
22. 7.	—	+++	
23. 7.	—	+++	
24. 7.	—	+++	
26. 7.	—	+++	
28. 7.	—	+++	
29. 7.	—	+++	Urethraleiter —
30. 7.	—	+++	
1. 8.	—	+++	Urotropin 2. 8.—5. 9.
3. 8.	—	+++	ab 2. 8. 4×0,5
7. 8.	—	+++	ab 6. 8. 6×0,5
9. 8.	.	.	Aggl. 1:1600
10. 8.	—	+++	
12. 8.	—	++	
15. 8.	—	+++	
17. 8.	—	—	
19. 8.	—	+++	
22. 8.	—	+++	
23. 8.	—	+++	
26. 8.	—	—	
31. 8.	—	+	ab 29. 8. 8×0,5
4. 9.	—	+	
7. 9.	—	+++	Salol 4×1 Messerspitze 9.—30. 9.
11. 9.	—	+++	
18. 9.	—	++	
20. 9.	—	+++	
23. 9.	—	++	
25. 9.	—	++	
27. 9.	—	++	
29. 9.	—	++	

Datum	Stuhl	Urin	
			Urotropin 1.—20. 10.
1. 10. 16	—	+++	ab 1. 9. 2×0,5
5. 10.	—	+++	„ 3. 9. 4×0,5
7. 10.	—	+++	„ 5. 9. 6×0,5
10. 10.	—	++	Aggl. 1:1600
12. 10.	—	+++	
14. 10.	—	++	
17. 10.	—	+++	
19. 10.	—	++	
21. 10.	—	+	
24. 10.	.	++	
26. 10.	.	+++	
28. 10.	.	+++	
31. 10.	.	++	
1. 11.	—	+++	
6. 11.	—	+++	
8. 11.	—	+++	
			Kupferpräparat 9.—14. 9.
10. 11.	—	+	ab 9. 11. 3×0,02
13. 11.	—	+	„ 11. 11. 4×0,02
			„ 13. 11. 5×0,02
23. 11.	—	+++	
25. 11.	—	+++	
29. 11.	—	+++	
2. 12.			Entlassung als Dauerausscheider in ein Heimatlazarett
[6. 12. 16	—	.	Duodenalgalle Parat. B +
9. 12.	—	—	
19. 12.	.	—	
30. 12.	.	.	Galle —
3. 1. 17	.	+	
4. 1.	.	+	
5. 1.	.	+	
9. 1.	.	.	Galle —
15. 1.	.	+	
17. 1.	.	.	Galle —
24. 1.	—	—	
25. 1.	—	.	
26. 1.	—	.	
12. 2.	—	—	
22. 2.	.	—	
24. 2.	.	—	Galle —
1. 3.	.	—	
2. 3.	.	.	Galle —
3. 3.	.	—	
6. 3.	.	—	
7. 3.	.	—	
9. 3.	.	.	Galle —
8. 3.	.	—	
9. 3.	.	—	
10. 3.	.	—	
13. 3.	.	—	
16. 3.	.	—	]

bestimmt und Werte zwischen Tausend bis Milliarden Keime im ccm erhalten. Gleichzeitig hat der Stationsarzt, Oberarzt d. R. Dr. Frhr. von Teubern, dem ich für die Ueberlassung seiner klinischen Beobachtungen zu großem Dank verpflichtet bin, die Schwankungen in der Reaktion des Urins festgestellt. Caretto war es nämlich gelungen, bei drei Kranken mit saurem sterilem Harne durch Alkalisieren des Urins nachzuweisen, daß er Typhusbazillen enthielt. Unser erster, auf Tabelle II dargestellter Versuch schien diese Ansicht zu bestätigen, denn

Tabelle II.
Versuch vom 30. 6. 1916

Urin		Keimzahl in ccm etwa
Probe von	Reaktion	
8h a. m.	schwach alkalisch	200 000 Keime
11h a. m.	Azidität 1,0	150 000 „
2h p. m.	„ 1,1	2 000 „
5h p. m.	schwach alkalisch	200 000 „

die beiden sauren Urinportionen vom Mittag enthielten weniger Keime als die alkalischen vom Morgen und Abend. Wir gaben deshalb 2 Tage später dem Patienten 11 Tage lang doppelte Fleisch- und halbe Gemüseportionen und erreichten damit eine erhebliche Säurung des Urins Tabelle III. Ein Verschwinden der infektiösen Keime konnten wir aber dabei nicht feststellen, im Gegenteil eine Zunahme der Bazillenmenge.

Tabelle III.
Azidität des Harns bei animalischer Kost.

Datum	Azidität			Keimzahl	
	Nachturin	Mittagsurin	Abendurin	Schätzung	Zählung
2. 7.	—	—	1,1		
3. 7.	1,6	1,7	2,3		
4. 7.	1,0	0,9	2,2	+++	
5. 7.	—	1,0	0,8		
6. 7.	1,1	1,5	—	+++	
7. 7.	1,5	1,1	2,0		
8. 7.	1,2	1,0	2,0		
9. 7.	—	—	2,5		
10. 7.	1,2	—	—	+++	Milliarden Keime
11. 7.	—	—	2,1		600 000 „
12. 7.	1,3	—	2,7	+++	
13. 7.	1,2	—	—		

Ein merkwürdiger Befund wäre hier noch zu erwähnen. Ganz zu Anfang der Beobachtung wurden nämlich einmal neben den Krankheitserregern auch Paratyphus B-Bazillen gefunden. Die Platte zeigte zwei Arten von Kolonien, kleinere, die mit Paratyphus A-, und größere, die mit Paratyphus B-Serum agglutinierten. Die weitere Untersuchung dieses Stammes ergab einen bakteriologisch und serologisch durchaus typischen Paratyphus B-Bazillus. Es wurde späterhin stets genau auf diesen Keim geachtet und oft eine ganze Reihe von Kolonien abgestochen, ohne daß es je wieder gelang, ihn nachzuweisen. 6 Monate später untersuchte Herr Reg.-Rat Prof. Dr. Küster, der Chefarzt

des Heimatlazaretts, in welches der Patient überführt wurde, die Galle, die er durch Duodenalsondierung gewann, und wies hier wiederum Paratyphus B-Bazillen nach. 6 weitere Untersuchungen der Duodenalgalle fielen dann negativ aus. Eine Mischinfektion liegt nicht vor; dafür sprechen die serologischen Untersuchungen des Patientenblutes, die ich in der Tab. IV zusammengestellt habe. Das Serum agglutiniert ausschließlich Paratyphus A-Bazillen. Der positive Befund bei der zweiten Untersuchung mit dem B. Dysenteriae Shiga-Kruse ist wohl als Mitagglutination aufzufassen. Ich möchte ein sekundäres Einwandern der Paratyphus B-Bazillen annehmen, wozu Gelegenheit dadurch vorhanden gewesen ist, daß sich auf der gleichen Station zusammen mit diesem Patienten Paratyphus B-Bazillenträger befanden. Dieses Einwandern verwandter Keime bei Dauerausscheidern kommt meines Erachtens ziemlich häufig vor und ist ja auch beim Typhus schon längere Zeit bekannt. Ich habe in einer großen Zahl von Fällen verschiedene Erreger in den Ausscheidungen der Patienten nachweisen können, habe sogar auch beobachtet, daß die sekundär eingewanderten Keime die primären verdrängt haben, so daß also der Patient in der Art der ausgeschiedenen Bazillen wechselte. Diese Befunde beziehen sich aber meist auf Stuhlausscheider und sind durch Aufnahme per os leicht erklär-

Tabelle IV.
Agglutinationstiter des Patientenserums.

Blutentnahme	Stamm	Zeit nach	Verdünnung 1 zu							
			50	100	200	400	800	1600	3200	6400
9. 8.	B. typhi	3h Brutschrank	—	—	—	—	—	—	.	.
		a. nächst. Morgen	++	—	—	.	.	.	.	.
	B. paratyphi A	„	+++	+++	+++	+++	++	+	—	.
			+++	+++	+++	+++	++	+	—	.
	Eigener Stamm	„	.	+++	+++	+++	.	.	.	.
				+++	+++	++		.	.	.
	B. paratyphi B	„	.	—	—	—	.	.	.	.
				—	—	—	.	.	.	.
	B. enterit. Gärtner	„	.	—	—	—	.	.	.	.
				—	—	—	.	.	.	.
	B. dysenteriae Y	„	.	—	—	—	.	.	.	.
				—	—	—	.	.	.	.
9. 10.	B. typhi	2h Brutschrank	—	—	—	.	.	.	.	.
		a. nächst. Morgen	—	—	—	.	.	.	.	.
	B. paratyphi A	„	+++	+++	+++	++	++	±	—	—
			+++	+++	+++	+++	+++	++	—	—
	Eigener Stamm	„	++	++	++	++	+	—	—	—
			+++	+++	+++	+++	++	+	±	—
	B. paratyphi B	„	—	—	—	.	.	.	.	.
			—	—	—	.	.	.	.	.
	B. enterit. Gärtner	„	—	—	—	.	.	.	.	.
			—	—	—	.	.	.	.	.
	B. dysenteriae Shiga	„	+	±	—	.	.	.	.	.
			+++	++	+	.	.	.	.	.
	B. dysenter.ae Y	„	—	—	—	.	.	.	.	.
			—	—	—	.	.	.	.	.

bar. Bei Urinausscheidern müßte man ein Aszendieren in den Harnwegen annehmen.

Die weitere Beobachtung der Urinausscheidung des Patienten ergab dann noch Folgendes. Bereits bei den ersten bakteriologischen Untersuchungen fiel es mir auf, daß neben den zahlreichen kleinen runden glänzenden Paratyphus A-Kolonien auf der von uns verwandten Chinablau-Malachitgrün-Platte einzelne Kolonien gewachsen waren, die eine ganz andere Form zeigten: sie waren etwa dreimal so groß wie die Normalkolonien, waren nicht so regelmäßig rund wie diese, sondern hatten einen leicht ausgezackten Rand, ferner eine ganz fein granulierte Oberfläche und waren etwas trüber als die typischen Kolonien. Bakteriologisch verhielten sie sich wie Paratyphus A-Stämme. Diese atypische „himbeerartige" Wuchsform wurde dann in jeder Untersuchungsprobe wiedergefunden. Spätere Literaturstudien zeigten mir, daß diese Variation bereits als Q-Form (von Lingelsheim) bei Typhus-, Paratyphus B-, Enteritidis- und Alkaligenes-Kulturen beschrieben ist. Neu ist also bei meinem Befund nur, daß diese Form auch beim Paratyphus A vorkommt. Auf die weiteren Versuche mit dieser Q-Form soll weiter unten noch näher eingegangen werden.

Von Ende Juli bis Anfang August fanden sich auf den Platten neben reichlich Paratyphus A- vereinzelt Kolikolonien. Ein Tagesurin enthielt sogar nur Coli-Bazillen, während in dem dazu gehörigen Nachturin wieder Milliarden von Paratyphus A neben vereinzelten Coli-Bazillen gefunden wurden (trotz einer Acidität von 2,0). Mitte August wuchsen auch einmal auf der Endoplatte reichlich Kokkenkolonien. Auch zur Erklärung dieser Befunde muß man sekundäres Einwandern annehmen.

Zur Heilung des Patienten wurde zunächst über einen Monat lang Urotropin 2—4 gr täglich gegeben. Es trat eine leichte Verminderung der Bazillenmenge ein. Dann wurde 3 Wochen lang Salol verordnet, dann wieder etwa ebenso lange Urotropin, schließlich wurde eine Behandlung mit einem Kupferpräparat der Tropenwerke eingeleitet, dann aber abgebrochen, weil der Patient zur Entlassung bestimmt worden war. Ueber diese Heilversuche habe ich bereits zusammen mit von Teubern berichtet. Sie blieben bei diesem Patienten vollkommen erfolglos, abgesehen von der schon erwähnten geringfügigen Abnahme der Bazillenmenge während der ersten Behandlung mit Urotropin und der Kur mit dem Kupferpräparat (vergl. Tab. I). In dem Heimatlazarett, in welches der Patient überführt wurde, hörte dann einen Monat später die Bazillenausscheidung auf, ohne daß der Patient dort behandelt worden war. Schon bei der Entlassung aus dem Genesungsheim Spa zeigte der Abgangsbefund eine wesentliche Besserung im Befinden des Patienten: er selbst war frei von Beschwerden, hatte nur noch gelegentlich etwas Brennen in der Harnröhre und Kreuzschmerzen; es ließ sich nur noch beiderseits eine geringe Druckempfindlichkeit der Nierengegend nachweisen. Gleichzeitig mit dem Sistieren der Bazillenausscheidung muß man also wohl auch eine klinische Genesung des Patienten annehmen. Daß tatsächlich der Patient dauernd bazillenfrei geworden ist, beweisen die 13 bakteriologischen Untersuchungen mit negativem Resultate, die sich über 2 Monate erstrecken.

Bot schon die Erkrankung dieses Patienten, seine Dauerausscheidung im Urin und die Grundlagen derselben manches Bemerkenswerte, so soll jetzt noch der interessante bakteriologische Nebenbefund, das

Auftreten der Q-Form und die Ergebnisse der Untersuchung derselben, mitgeteilt werden.

Die Frage der Mutation und Variation bei den Bakterien, insbesondere der Typhus-Coli-Gruppe, hat in den letzten Jahren vor dem Kriege eine ganze Reihe von Forschern beschäftigt. Ich will auf die Arbeiten aus diesem Gebiet nur soweit eingehen, wie sie die Q-Form behandeln. Diese wurde zuerst von v. Lingelsheim beschrieben. Er fand sie in alten Typhuskulturen, dann auch bei Paratyphus B-, Enteritidis- und Alkaligenes-Bazillen. Die schon früher von Baerthlein beim Typhusbazillus aufgestellten, sechs verschiedenen Mutationstypen und die von Bernhard und Ornstein beschriebenen, abweichenden

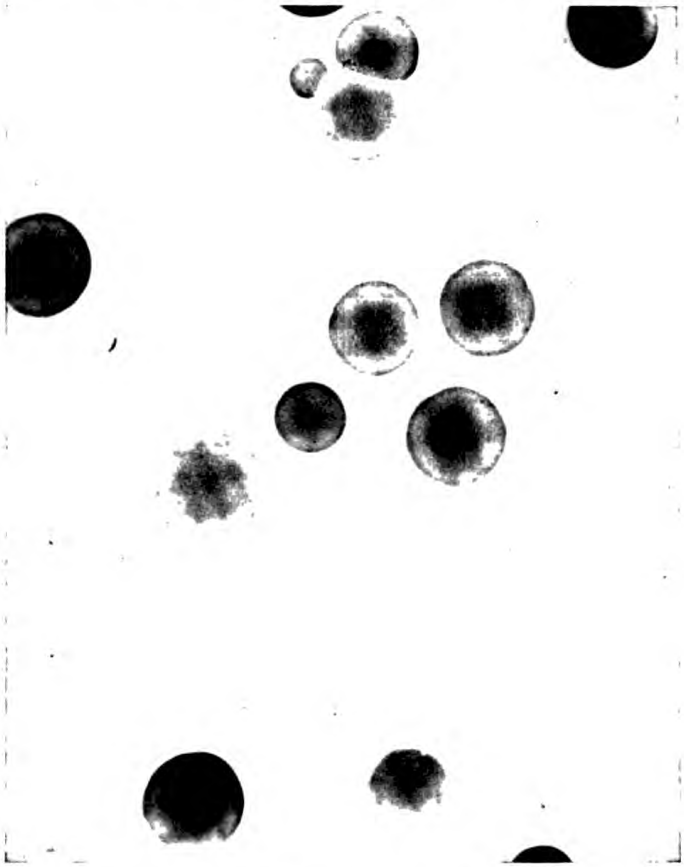


Fig. 2. Mikrophotogramm der Normalform. 48-std. Kultur auf Endo. Etwa 10-iache Vergrößerung.

Typen lehnt er als inkonstant ab. Seinem Mitarbeiter Sachs-Müke gelang es, von den Baerthleinschen Mutationen nur bei der „weinblattähnlichen, geriffelten" Form Gläwe die typische Q-Form zu erhalten. Neuerdings beschreibt Gildemeister diese Kolonien, die er bereits bei der Isolierung aus dem infizierten Organismus beobachten konnte. Er fand sie in frischen Ausstrichen von vier Typhusurinen, bei einem Dauerausscheider von Paratyphus B-Bazillen im Stuhl und schließlich auch beim Bact. coli und bestätigt die Befunde von v. Lingelsheim.

Von meinen Untersuchungen der Q-Form bei Paratyphus A ist zunächst das zahlenmäßige Verhältnis zu den normalen Kolonien im Laufe der langen Beobachtungszeit des Patienten bemerkenswert. In meinem ausführlichen Protokoll über diesen Fall finde ich bei der ersten Beschreibung der Q-Form die Bemerkung, daß auf der

ganzen, reichlich bewachsenen Platte 3 derartige Kolonien nachzuweisen waren. 14 Tage später findet sich eine atypische auf mehrere 100 Normalkolonien. Einen Monat danach enthält eine Urinprobe neben reichlichen runden typischen Paratyphus A-Kolonien, „ganz vereinzelt himbeerartige". In der Folgezeit nimmt dann die Zahl der atypischen Kolonien erheblich zu. Zwei weitere Monate später kommt bereits eine Q-Form auf etwa 3 typisch wachsende Keime und am Ende der Beobachtung des Patienten in der Urinprobe vom 23. November bilden die atypischen Kolonien fast die Hälfte der Gesamtzahl. Im Laufe

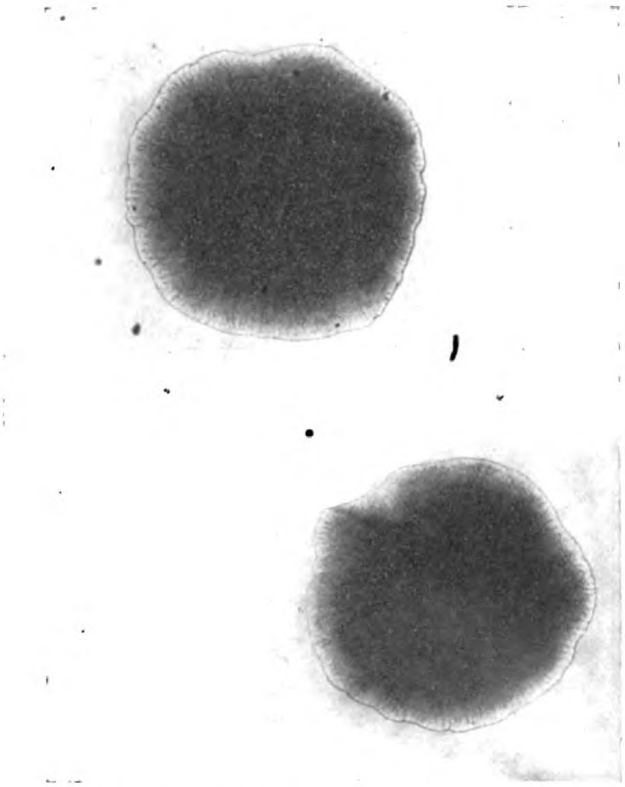


Fig. 3. Mikrophotogramm der Q-Form. 48-stünd. Kultur auf Endo. Etwa 10-fache Vergrößerung.

der Beobachtung und damit auch mit der Näherung an das Ende der Bazillenausscheidung nimmt also die Zahl der Q-Formen in den einzelnen Urinproben sehr erheblich zu.

Das kulturelle Verhalten wurde stets im Vergleich mit der Normalform geprüft. Ich gehe aus von dem Wachstum auf der Endo-Platte. Die gewöhnlichen Paratyphus A-Bazillen bilden hier kleine bis mittelgroße, kreisrunde, scharfrandige, glänzende, durchsichtige Kolonien. Die Größenunterschiede sind durch Verhältnisse auf dem Nährboden bedingt; Abimpfungen verschiedener derartiger Kolonien haben die Inkonstanz dieser Merkmale erwiesen. Die Q-Form bildet schon nach 24 h Kolonien, die etwa 2—4mal so groß sind und ferner durch ihren geringeren Glanz und ihr trübes Aussehen auffallen. Ihr Rand

ist meist leicht ausgezackt, der Umriß ist nie regelmäßig rund und zeigt oft ganz unregelmäßige Vorbuchtungen. Die Oberfläche ist ganz fein gekörnt, chagriniert, dadurch ist das trübere Aussehen und die geringere Durchsichtigkeit bedingt. In der Mitte der Kolonien ist oft eine leichte Nabelbildung erkennbar, darum eine mehr oder weniger deutliche konzentrische Schichtung. In der Nähe des Randes ist besonders nach einigen Tagen ein deutlich konzentrischer Ring ausgebildet; außerhalb davon fällt die Kolonie allmählich flach ab und es bildet sich hier eine radiäre Furchung oder Ausstrahlung bis zu dem unregelmäßigen Rande. Die beiden Mikrophotogramme auf Abb. 2 und 3 zeigen diese Unterschiede zwischen der Normal- und der Q-Form, vor allem die verschiedene Größe und äußere Form, mit genügender Deutlichkeit;

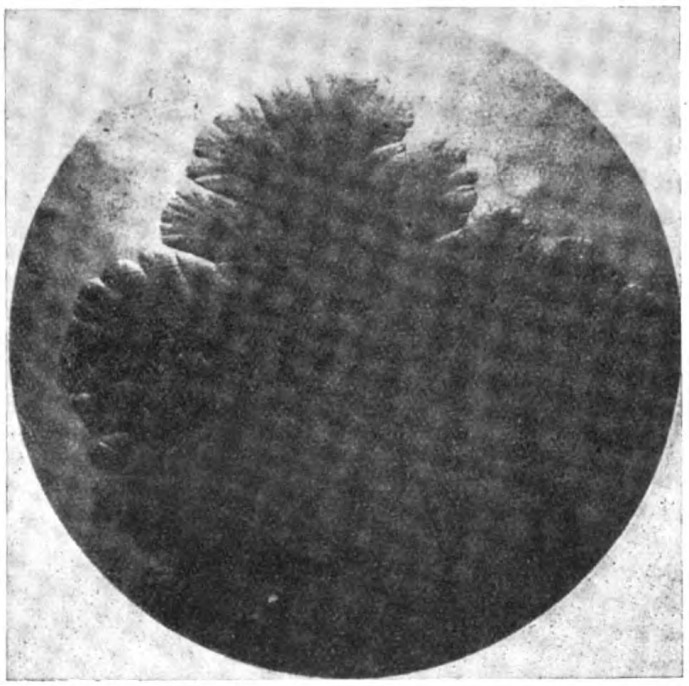


Fig. 4. Q-Form: Riesenkolonie. Kultur auf Endo nach 34 Tagen. Etwa 3-fache Vergrößerung.

Feinheiten, die nicht in einer Ebene liegen, lassen sich ja mit der Mikrophotographie nur immer teilweise darstellen. Läßt man dann die Platten etwa 1 Monat bei Zimmertemperatur stehen, so kann man folgenden Befund erheben. Die Kolonien der Normalform sind noch immer kreisrund; sie haben die rote Farbe des Endo-Agar intensiv angenommen, zeigen aber am Rande eine feine farblose Zone. Bei schwacher Vergrößerung (Leitz Nr. 1) hebt sich diese Randzone deutlich als farbloser Streifen von der stark rot gefärbten Kolonie ab. Er ist nach außen etwas unregelmäßig begrenzt, ganz leicht gekörnelt und radiär gestreift. Die atypischen Kolonien sind teilweise noch größer geworden. Gewöhnlich beträgt ihr Durchmesser $^1/_4$– 1 cm. Auf einer Platte habe ich Riesenkolonien gesehen, deren größte 2,9:2,7 cm groß war. Ein Teil derselben ist auf der Abb. 4 wiedergegeben. Die Q-Formen haben gleichfalls die Farbe des Nährbodens intensiv angenommen und

haben äußere radiäre Protuberanzen bekommen. Diese sind ebenfalls farblos, strecken sich fingerarttig aus, teilweise mit dichotomischer Teilung. Sie liegen aber dicht beieinander und bilden so dicke schleimartige Wülste, die man besonders deutlich bei schwächerer Vergrößerung erkennt. Dieser Rand ist sehr stark glänzend; Abb. 5 zeigt ihn recht deutlich. An anderen Kolonien der Q-Form ist nur ein schleimiger Ring vorhanden, keine Protuberanzen. An der in Abb. 4 wiedergegebenen Kolonie sind diese Vortreibungen viel länger und flacher. Es handelt sich aber auch hier um eine typische Q-Form, wie Weiterzüchtungen ergeben haben; die erwähnten Abweichungen sind wohl nur durch örtliche Verhältnisse im Nährboden bedingt. Auf derselben Platte haben sich auch Kolonien wie auf Abb. 5 gefunden. Diese Wallbildungen

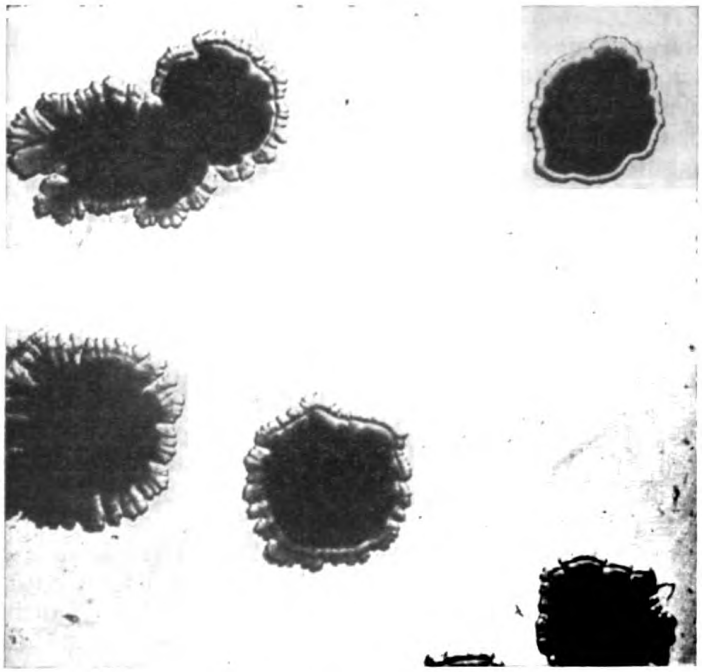


Fig. 5. Q-Form: Schleimwallbildung an 34 Tage alten Kolonien auf Endo-Agar. Etwa 3-fache Vergrößerung.

bei der normalen und der Q-Form sind Neubildungen außerhalb der ursprünglichen Kolonie.

Eine schleimige Wallbildung haben von Drigalski und Fischer zuerst an Paratyphus B-Kolonien beschrieben. Die von R. Müller gefundenen Entstehungsbedingungen derselben sind auch bei mir vorhanden gewesen. Die Platten sind erst im Brutschrank, dann bei Zimmertemperatur gehalten worden. Auch ein typhusartiger Verlauf der Krankheit hat ja in meinem Falle vorgelegen. Beim Typhus- und Paratyphus A-Bazillus scheint aber diese Bildung bisher noch nicht bekannt zu sein. Ich habe diese schleimige Wallbildung aber auf Platten gesehen, die 3 Wochen im Brutschrank gestanden haben; natürlich war sie hier nicht so ausgesprochen, weil ja der Nährboden und damit auch die Kolonien darauf sehr eingetrocknet waren.

Mehrmalige Abimpfungen von Partien des Randes und der Mitte der atypischen Kolonien mit Schleimwallbildung haben stets die gleichen Kolonien der Q-Form ergeben. Auch mikroskopisch, im hängenden

Tropfen und im Gram-Präparat, habe ich keine Unterschiede an dem Material aus dem Zentrum und der Peripherie erkennen können.

Ich komme damit auf die Morphologie. Sämtliche Kolonien zeigen ziemlich feine kurze Stäbchen. Während aber bei den Bazillen aus den normalen Kolonien deutliche Beweglichkeit vorhanden ist, ist diese bei den Q-Formen durch eine unlösliche Zusammenklumpung gehemmt. Meine Befunde decken sich hier vollständig mit denen von v. Lingelsheim und Gildemeister.

Beim Abimpfen von der Platte tritt ein weiterer Unterschied zwischen den beiden Wuchsformen zutage. Während das Material von den typischen Kolonien wegen einer gewissen Feuchtigkeit leicht entfernbar ist und häufig dabei Fäden zieht, ist die Q-Form ziemlich trocken, das Material bleibt schwer an der Nadel. Vielmehr schiebt sich die Kolonie im ganzen wie etwas feuchter Sand vorwärts, indem einzelne Partien einreißen und abbröckeln, ohne an der Oese zu haften.

Unterschiede zwischen den beiden Formen sind dann nur noch auf folgenden Nährböden festzustellen.

Auf dem Schrägagar bildet die Normalform einen feinen, dünnen, homogenen, gut durchsichtigen Rasen, während dieser bei der Q-Form etwas dicker, unregelmäßig gekörnt und weniger durchsichtig ist, mit einer leichten Wallbildung am Rande. Außerhalb davon findet sich noch eine gut durchsichtige Partie.

Bouillon wird durch die typischen Paratyphus A-Bazillen in 24 h-Brutschrank wolkig getrübt, ohne daß sich zunächst ein Bodensatz bildet; dieser tritt erst in einigen Tagen auf, wobei die Bouillon selbst noch trübe bleibt. Die Q-Form läßt diesen Nährboden fast klar, es bildet sich aber sofort ein dicker wolkiger Bodensatz. Nach 4 Wochen ist die Bouillon bei beiden gleich: ganz schwach trübe mit einem dicken, flockigen Bodensatz in der ganzen Kuppe des Reagenzglases, der sich bei gründlichem Durchschütteln verteilt und eine starke Trübung hervorruft.

Auf der Blutagarplatte (Schottmüller) bilden beide Formen graue Kolonien ohne Hämolyse; nach einigen Tagen tritt aber unter den Q-Formen eine schwarz-grüne Verfärbung des Nährbodens ein. Selbstverständlich treten die oben auf dem Endo-Agar beschriebenen Wachstumsunterschiede auf jedem anderen festen Nährboden zutage.

Auf allen übrigen Nährböden verhalten sich die beiden Formen typisch und vollkommen gleich. Es sind geprüft worden: Lackmusmolke, Milch, Traubenzuckerbouillon mit Gärungsröhrchen, Lackmus-Nutrose-Milchzucker- und Traubenzuckerlösung (Barsiekow), Schüttelkulturen in Traubenzucker-, Milchzucker- und Neutralrotagar, Xylose-Fuchsinagar und Galaktosemilch (Bieling); auch Indolbildung ist bei beiden nicht nachweisbar.

Das Studium des serologischen Verhaltens wird dadurch erschwert, daß die Q-Form spontan agglutiniert, wie ja schon aus dem oben beschriebenen, mikroskopischen Verhalten hervorgeht. Jedoch kann man dem aus dem Wege gehen, wenn man die an sich sehr schwache Spontanagglutination abstrahiert. Ich habe filtrierte Abschwemmungen von frischen Agarkulturen benutzt, die zunächst eine gleichmäßige Suspension bilden, sich aber sehr schnell am Boden absetzen. Wenn man dann aber die Röhrchen durchschüttelt und sie mit einer schwachen Lupe betrachtet, so kann man die nur ganz feinen Körnchen der Spontanagglutination ganz gut von den viel gröberen, durch das agglutinierende

Serum hervorgerufenen Flocken unterscheiden. Auf diese Weise habe ich feststellen können, daß sich die Normal- und Q-Form den agglutinierenden Seris gegenüber gleich verhalten. Ich habe die Ergebnisse einer Reihe von Einstellungen auf der Tab. V zusammengestellt. Der angegebene Titer des Paratyphus A-Serums (1:20,000) ist zu hoch, wie mir auch Untersuchungen an zahlreichen anderen Stämmen gezeigt haben. Die Agglutination ist meist nach 2 h-Brutschrank schon beendet, nach 24 h wird sie nur noch großflockiger. Fortschritte nach 24 h sind auf der Tabelle in runden Klammern hinter den Wert nach 2 h gesetzt. Nur schwache Agglutinationswerte sind in eckige Klammern gefügt worden. Die Einstellungen wurden an drei Tagen vorgenommen: am 28. VII. 16, wo nur das Verhalten mit Typhus-, Paratyphus A- und B-Serum geprüft wurde, am 7. VIII. 16, wo das Gärtner-Serum hinzukam, und am 28. XI. 16, wo das Dysenterie Y-Serum hinzugezogen wurde. Dadurch ist an den einzelnen Reihen auf Tab. V

Tabelle V.

Ergebnisse der serologischen Einstellungen.

Stamm	Typhus-Serum	Parat. A-Serum	Parat. B-Serum	Gärtner-Serum	Dysent. Y-Serum
Parat. A-Normalform vom 22. 6. 16, Urin	1:200	1: 8000	1:50 (200)		
Dieselbe vom 4. 7. 16, Urethraleiter	1:200	1:16000	1:50 (200)		
Dieselbe vom 10. 7. 16, Urin	1:400	1:16000	1:50 (100)	1:200	
Dieselbe, 3 Monate später	1:200	1: 6400	1:100		neg.
Dieselbe, größere Kolonie von der Urinplatte vom 10. 7. 16	1:400	1:8000 (16000)	[1:50]	[(1:200)]	
Dieselbe, 3 Monate später	[(1:50)]	1:12800	1:50		neg.
Dieselbe, vom 23. 11. 16, Urin	1:50	1:51200	1:100		neg.
Parat. A Q-Form vom 6. 7. 16, Urin	1:800	1: 8000	1:200		
Dieselbe vom 10. 7. 16, Urin	1:400	1:16000	[1:200]	[1:100]	
Dieselbe vom 6. 7. 16, 3 Monate später	[(1:200)]	1:12800	neg.		neg.
Dieselbe vom 10. 7. 16, 3 Monate später	[(1:50)]	1:12800	1:100		neg.
Dieselbe vom 15. 8. 16, Urin	[1:50]	1: 6400	1:100		[1:50]
Dieselbe vom 27. 10. 16 Urin	[1:50]	1: 6400	1:100		neg.
Dieselbe vom 23. 11. 16 Urin	[1:50]	1:25600	1:50		neg.
Parat. B-Normalform vom 29. 6. 16, Urin	1:200	1:50	1:16000		
Typhus-Nomalform zum Vergleich der Serumwirkung	1:32000	1:800	1:200		

erkennbar, zu welcher Einstellung sie gehören. Die Schwankungen der Werte halten sich in den normalen Grenzen, geringe Mitagglutinationen verwandter Bakterien zeigen sich ja bei jedem Serum.

Weiterhin habe ich mit der Q-Form ein Serum hergestellt. Die älteste Kultur dieser Form war inzwischen fast 11 Monate im Laboratorium weiter gezüchtet worden, ohne daß eine Veränderung an ihr auftrat. Ich injizierte einem 2920 gr schweren Kaninchen steigende Mengen von Agarabschwemmungen in die Ohrvene. Frische Agarkulturen wurden mit physiologischer Kochsalzlösung abgeschwemmt und durch etwa 20 Minuten langes Erwärmen auf 50—60° abgetötet. Das Tier erhielt etwa $^1/_4$, $^1/_2$, $^1/_2$ und $^3/_4$ Agarkultur nach 2, 12 und 21 Tagen. Die erste Injektion wurde gut vertragen, nach der zweiten litt das Tier zwei Tage an Appetitlosigkeit und Dyspnoe, nach der dritten zeigte es nur am gleichen Nachmittag Unlust zum Fressen und beschleunigtes Atmen und die vierte rief wieder keine Reaktion hervor. Kontrollabimpfungen von dem injizierten Material ergaben dreimal Sterilität, nur bei der zur dritten Injektion verwendeten Kulturabschwmung wuchsen noch zahlreiche Q-Formen. Am 21. und 33. Tag von dem Tier gewonnene Sera agglutinierten die Normal- und die Q-Form in etwa gleicher Weise bis 1:16,000. Auffallend war an diesem Serum aber, daß weder Typhus- noch Paratyphus-B-Bazillen selbst in der Verdünnung 1:50 nach 24 h mitagglutiniert wurden. Das absolute Freisein dieses Immunserums von Nebenagglutininen spricht doch wohl dafür, daß die Q-Form eine besondere Spezifität der Art darstellt. Ich werde darauf gleich noch näher zu sprechen kommen. Es wurde schließlich noch der Castellanische Versuch angestellt. Je 10 ccm der Verdünnung 1:100 des Immunserums wurden mit je 3 Agarkulturen beider Wuchsformen abgesättigt. Nach 24 h wurden die Sera abzentrifugiert. Neue Einstellungen beider Sera mit beiden Formen ergaben, daß das mit der Normalform abgesättigte Serum nach 24 h bis zur Verdünnung 1:200 die Q-Form schwach agglutinierte, und umgekehrt das mit der Q-Form abgesattigte Serum die Normalform in der Verdünnung 1:100. Dieser Befund bestätigt nur die Tatsache, daß das mit der Q-Form hergestellte Immunserum ein typisches Paratyphus A-Serum ist, und die in dieser Form wachsenden Bazillen typische Paratyphus A-Bazillen sind.

Tierversuche konnten nur an einigen weißen Mäusen angestellt werden. Zunächst wurde eine Maus mit 0,5 ccm Bouillonkultur der Q-Form intraperitoneal infiziert. Sie wurde am nächsten Morgen tot aufgefunden. Bei der Sektion fiel die sehr starke Vergrößerung der Milz auf. Ein direkter Abstrich von Herzblut auf Endo-Agar ergab reichlich Kolonien der Q-Form. Außerdem wurde das Herz, die Milz, die Leber, die Gallenblase, eine Niere und die Harnblase, sämtliche Organe aufgeschnitten, in Galleröhrchen angereichert, die nach 24 h Brutschrank auf Endo-Agar ausgestrichen wurden. Es wuchsen überall reichlich und allein Kolonien der Q-Form — also nicht eine Kolonie zeigte die Normalform —: daneben waren aus der Niere vereinzelt, und aus der Harnblase reichlich Coli-Kolonien nachweisbar. Wenn auch die Möglichkeit bestand, daß die Bazillen von der Oberfläche der Organe stammten, wohin sie ja schon bei der peritonealen Infektion gelangt waren, so sprach doch der positive Blutbefund dafür, daß das Tier an einer Sepsis zugrunde gegangen war. Es wurden dann zwei Reihen von Mäusen mit je 0,5 der Verdünnungen 1:10, 100 usw.

von Bouillonkulturen der normalen und der Q-Form peritoneal infiziert. Davon starb nur die Maus, die mit $^1/_{10}$ der Normalform infiziert war; aus ihrem Herzblut wurde eine Reinkultur von typischen Paratyphus A-Bazillen gezüchtet. Alle anderen Tiere blieben gesund. In einem dritten Versuch wurden vier Mäuse mit je 0,5 Vollkultur und $^1/_{10}$ Verdünnung von beiden Formen infiziert. Wieder starb nur eine Maus, die mit 0,5 Vollkultur der Normalform geimpft war; im Herzblut fand sich gleichfalls eine Reinkultur dieser Bazillen. Weitere Versuche konnten aus äußeren Gründen nicht vorgenommen werden. Diese Versuche ergaben, daß die Pathogenität für Mäuse bei beiden Formen sehr gering war.

Schließlich habe ich noch eine Reihe von Umzüchtungsversuchen angestellt, um die Q- in die normale Form überzuführen. Ich habe die Q-Form 13 Monate fortgezüchtet, ohne daß spontan auch nur eine einzige Kolonie einmal wieder den normalen Charakter gezeigt hätte. Einen Monat lang wurde der Stamm täglich verimpft, dann blieb er wieder monatelang stehen, ohne daß eine Umwandlung eintrat. Höhere Temperaturen, 60—70°, töten die Kulturen entweder ab, oder es wachsen nur Q-Formen. Bei einem derartigen Versuch, bei dem ich zum Vergleich eine Kultur des Normalstammes mit bearbeitete, wurde nach $^1/_2$ h Wasserbad von 61—59° der Normalstamm als abgetötet befunden, während noch reichlich Kolonien der Q-Form entstanden (weil sie Buckel bilden, die in ihrem Innern lebende Bazillen enthalten). Das spräche für eine größere Resistenz der Q-Form höheren Temperaturen gegenüber. 2 weitere derartige Versuche ließen aber diesen Unterschied nicht erkennen. Selbstverständlich behielt die Q-Form ihre sämtlichen Eigenschaften auch nach Züchtung auf sämtlichen, oben beschriebenen festen und flüssigen Nährböden; auch die eine gelungene Mäusepassage änderte nichts daran. Schließlich habe ich die von v. Lingelsheim angegebene Züchtung in dünner Bouillonschicht versucht. Ich benutzte eine kleine Petri-Schale mit etwas Bouillon. Nach 3tägiger Bebrütung zeigte etwa ein Viertel der Kolonien ein der Normalform ähnliches Wachstum. Diese Kolonien waren nur etwas größer. Nach 14tägiger Beobachtung entsprachen sie an Größe etwa der Normalform, sie waren ferner kreisrund und zeigten eine glatte, glänzende Oberfläche, nur in der Mitte einen kleinen Nabel, während die Q-Formen wieder die oben genau beschriebenen Veränderungen zeigten. Die umgezüchteten runden glatten Kolonien wuchsen aber in Bouillon schon wieder wie die Q-Form: sie ließen sie klar und bildeten einen ziemlich starken Bodensatz. Auch agglutinierten sie spontan wie die Q-Form. Alle diese Versuche mußten dann abgebrochen werden, weil andere Aufgaben an mich herantraten.

Die biologische Bedeutung der Q-Form, die nun bei allen Bakterien der Typhus-Coli-Gruppe nachgewiesen ist, bleibt noch immer ungeklärt. Die Annahme von v. Lingelsheim, daß dies Stadium für die Arterhaltung von Wichtigkeit sei, wie die Zoogloeen-Zustände bei den Nitritbakterien, erscheint mir sehr plausibel, und auch mancher Befund von mir spricht ja dafür. Bei Desinfektionsversuchen im Reagenzglas mit Chinaalkaloiden in Morgenroths Laboratorium habe ich kürzlich beim Vibrio Nasik ähnliche Formen gesehen in Ausstrichen von konzentrierten Lösungen, die nur eine Wachstumshemmung bewirken. Hier traten neben den runden glänzenden kleinere, wie geschrumpft aussehende Kolonien und auch Mischformen zwischen beiden

auf. Diese gaben bei der Weiterimpfung typische und geschrumpfte Kolonien: die geschrumpften Kolonien haben bei der Weiterzüchtung bisher ihre Form behalten. Ich möchte sie mit den Q-Formen identifizieren. Wahrscheinlich werden sich bei allen anderen Bakterien diese Bildungen noch nachweisen lassen. An dem großen Spaer Material habe ich die Q-Formen bei Paratyphus B relativ häufig gesehen, bei Paratyphus A nur in diesem einen Falle und bei Typhus überhaupt nicht. Auch bei der Dysenterie Y scheinen derartige Bildungen vorzukommen. Auffällig ist, daß Gildemeister die Q-Form auch in vier Urinen, wie in meinem Falle, von Typhuskranken gefunden hat. Ich habe sie freilich auch auf Stuhlplatten beim Paratyphus B gesehen. Die praktische Bedeutung der Q-Form ist nicht groß. Sie findet sich viel zu selten und tritt dann stets zusammen mit typischen Kolonien auf, so daß sie für die Stellung einer Diagnose wohl kaum in Frage kommt.

Literatur.

Baerthlein, Arb. a. d. Kaiserl. Ges.-Amt Bd. 40. 1912. S. 433. — Bieling, R., D. m. W. 1916. Nr. 18. — Brion, A., u. Kayser, H., M. m. W. 1902. S. 611. — Bumke, E., u. Teubern, C. Frhr. v., Beitr. z. Klin. d. Inf.-Krnkh. Bd. 6. S. 93. — Caretto, R., Gaz. d'Osped. ed clin. Vol. 30. 1909; ref. Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Ref. Bd. 45; 1910. S. 235. — Gildemeister, E., Ctrbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 78; 1916. S. 209. — Derselbe, ebenda S. 129. — Derselbe, ebenda, Bd. 79; 1917; S. 50. — Goldscheider u. Kroner, K., Berl. klin. W. 1915. S. 933. — Knauth, D. m. W. 1913 S. 1094. — Krause, P., Virchows Arch., Bd. 246 u. Verhandlungen der außerordentlichen Tagung des dtsch. Kongr. f. inn. Med. Warschau 1916. S. 239. — Kutscher, K. H., Kolle-Wassermann, 2 Aufl. Bd. 3. 1913. S. 717. — v. Lingelsheim, Ctrbl. f. Bakt. Abt. I., Orig. Bd. 68. 1913. S. 577. — Löwenthal, F., M. m. W. 1916. S. 1616. — Marchildon, Amer. Journ. med. Science. Vol. 140 Nr. 1. ref. Ctrbl. f. Bakt. Abt. I. Ref. Bd. 48. 1911. S. 163. — Pick, L., D. m. W. 1910. S. 1499. — Prigge, E., Arb. a. d. Kaiserl. Ges.-Amt. Bd. 41. 1912. — Rimpau, W. ebenda. — Sachs-Müke, Ctrbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 68. 1913. S. 582. — Saphier, W. kl. W. 1916. S. 1530. — Schottmüller, H., Hndb. d. inn. Med. von Mohr-Staehelin, I. Bd. 1911. — Takaki, T. und Werner, H., Ztschr. f. Hyg. Bd. 27. 1898. S. 31. — Uhlenhuth u. Hübener, Kolle-Wassermann, 2. Aufl. Bd. 3, 1913. S. 1136.

Nachdruck verboten.

Untersuchungen über die Variabilität des Bacterium coli.

[Aus der Parasitologischen und Vergleichend-pathologischen Abteilung des Pathologischen Institutes der Universität Berlin (Direktor: Geheimrat O. Lubarsch).]

Von Dr. med. **Diego Anselmi**, Neapel.

Nicht nur das zunehmende Interesse, das die bakteriologisch-klinische Forschung in letzter Zeit am Studium des Bacterium coli, besonders im Zusammenhang mit der Pycocystitis (Szickeli, Meyer und Loewenberg) genommen hat, hat uns veranlaßt, uns mit dieser Bakteriengruppe zu beschäftigen, sondern auch zum mindesten im gleichen Maße das Bestreben, beim Studium anderer Bakteriengruppen

(Pneumokokken) gewonnene, allgemeine Vorstellungen am Beispiel des Coli-Bazillus zu überprüfen. Es handelt sich hier um die wichtige Frage der Entstehung serologischer Typen und der damit verbundenen Frage der Variabilität der Mikroorganismen unter Berücksichtigung der Eigenart des Verhältnisses vom Wirtsorgan zum Keim, dem Saprophytismus oder Parasitismus.

Auf dem Gebiete der Variabilität verdanken wir van Loghem und seiner Schule grundlegende Untersuchungen, deren wichtigste in der Arbeit „Variabilität und Parasitismus" niedergelegt sind. Es handelt sich hier um die bekannten Studien an den Bakterien der Typhus-Coli-Gruppe, die zur Feststellung einer extremen Invariabilität bei dem Typhusbazillus, einer gewissen fest begrenzten Variabilität bei dem Coli-Bazillus führten. Van Loghem wirft zum Schluß die Frage auf, ob vielleicht die Variabilität eine Eigenschaft ist, welche zum saprophytischen Charakter gehört und bei den Parasiten verloren geht:

„Wir wissen ja, daß im allgemeinen mit der Entwicklung der parasitären Funktionen gewisse Eigenschaften der freilebenden Formen verschwinden können. Nach dieser Auffassung würde die starke Variabilität des Bacterium coli zusammenhängen mit seinem saprophytischen und kommensalen Charakter; der Paratyphus B-Bazillus — ein zum Parasitismus geneigter Kommensale — zeigt schon größere Stabilität. Die höchste Invariabilität finden wir beim Typhusbazillus, dem obligaten Parasiten, welcher, angepaßt an die Gewebe seines Wirts, das Vermögen der Umwandlungsfähigkeit eingebüßt hat."

Die Tatsache der Einheitlichkeit der Typhusbazillen auf der einen Seite, der Mannigfaltigkei der Coli-Bazillen auf der anderen Seite hat durch die Klarlegung der Variabilität (als Funktion) einen neuen wichtigen Gesichtspunkt gegeben, der seine Ergänzung noch durch weitere Untersuchungen von van Loghem fand, in denen er experimentell in der Kollodium-Sack-Kultur eine Vereinheitlichung differenter Typen saprophytären Charakters erzeugte, ohne daß jedoch die Versuche zu abschließenden Ergebnissen über die Entstehung serologischer Typen geführt hätten. Derartige Versuche sind ja vorher und nachher verschiedentlich vorgenommen worden, sei es mit derselben Technik, wie z. B. unlängst von Silber mit dem Proteus X 19, oder durch den Weg der Tierpassage (Boddaert für den Paratyphus B, Wolff für die Pneumokokken) oder auch durch Kultur in vitro, wie z. B. die bekannten Karbol- und minimalen Nährbodenversuche (Braun) oder die Kultur in immunstoffhaltigen Nährböden (z. B. Stryker).

Es kann hier nicht auf die sehr umfangreiche Literatur über die Entstehung der Bakterientypen im allgemeinen eingegangen werden, zumal gerade für das Bacterium coli die Frage der Typenentstehung noch nicht reif zu sein scheint. So viel geht jedoch aus den neuesten Untersuchungen von Meyer und Loewenberg hervor, daß gewisse Gruppengemeinschaften anzunehmen sind, daß z. B. die hämolytischen Coli-Stämme zum mindesten in enger serologischer Verwandtschaft miteinander stehen, da es diesen Autoren gelang, 24 hämolytische Coli-Stämme mit Immunseren, die von 4 hämolytischen Stämmen hergestellt wurden, zur Agglutination zu bringen. „Allerdings wurden nicht durch ein Serum alle Stämme agglutiniert, so daß keine weitere Identität in serologischer Beziehung besteht. Aber die Tatsache, daß die große Mehrzahl der Stämme durch diese Sera agglutiniert wird,

und daß wenige Sera ausreichen, um alle Stämme auszuflocken, weist darauf hin, daß in den hämolytischen Coli-Bazillen zwar verschiedene artspezifische Gruppen oder Rezeptoren vorhanden sind, daß deren Zahl aber nur gering ist."

Diese Befunde berechtigen also nicht dazu, von einer serologischen Einheitlichkeit des hämolytischen Coli-Bazillus zu sprechen. Vielleicht gelingt es einmal, was bisher nicht möglich war, bestimmte immer wiederkehrende fixierte Typen innerhalb der Coli-Gruppen aufzufinden, wie wir dies bei den Pneumokokken, Meningokokken und im gewissen Sinne auch bei den Influenzabazillen kennen. Von Wichtigkeit wird die Frage besonders dann, wenn es sich darum handelt, mit serologischer Methodik ein Urteil über den Charakter des Keims in dem Sinne zu fällen, daß eine zuverlässige Aussage über die Beziehung des Keimes zum Wirt, also über das Bestehen oder Fehlen eines Infektionsverhältnisses möglich ist. Die Situation ist ja beim Bacterium coli eine ganz ähnliche wie bei der Streptopneumokokkengruppe. Hier wie dort begegnen wir parasitischen und saprophytischen Formen, deren Unterscheidung oft nur mit komplizierter Technik, und auch dann nicht immer möglich ist, zumal sich auch allenthalben Uebergangsformen finden, seien es solche, die die Entwicklung vom Saprophyten zum Parasiten gerade durchmachen, bzw. die Potenz dazu aufweisen, oder solche, die nach einem parasitären Dasein der Entdifferenzierung unterliegen. Wolff hat in ausgedehnten Versuchen an der Streptokokkengruppe die Beziehungen der Keime zum Wirtsorganismus derart zu klären versucht, daß er nicht nur die Entstehung der bestimmten serologischen Typen (der Pneumokokken) auf Grund experimentell gewonnener Erfahrungen zu erklären versuchte, sondern auch die Fixierung bzw. Stabilität der parasitischen Keime, der Unfixiertheit bzw. Instabilität der saprophytischen Keime gegenüberstellte. Auf diese Weise ließen sich die mannigfaltigen Erscheinungsformen der Streptokokkengruppe in einem natürlich noch sehr lückenhaften Formenkreis zusammenfügen. Die Untersuchungen wurden durch eine Arbeit von Yamaguti ergänzt, der die unter Umständen gemischte saprophytär-parasitische Flora der Mundhöhle studierte und dabei für den umstrittenen sog. Pneumococcus IV der amerikanischen Nomenklatur zu der Aufstellung des Begriffes des Pneumococcus der „Person", d.h. des Pneumococcus, dem der Träger seine Individualität aufgeprägt hat, kam. Hier läßt sich an alte Auffassungen der Coli-Gruppe anknüpfen; hat doch schon Escherich die Hypothese aufgestellt, daß die Anpassung der infizierenden Coli-Stämme an den Organismus geradezu persönliche Coli-Rassen hervorgehen läßt.

Nach alledem scheint die gewöhnliche serologische Methodik nicht geeignet, die Frage zu klären, ob der im Einzelfall aus dem gesunden oder kranken Organismus gezüchtete Coli-Keim „der Infektionskeim" ist, oder ob wir einen saprophytischen Stamm vor uns haben, der gewissermaßen nur zufällig anwesend und ohne Bedeutung für die eigentliche Infektion ist. Die Frage hat ja ganz besonderes Interesse für die Pyelocystitiden; wenn von infektiösen Coli-Stämmen die Rede ist, handelt es sich ja im allgemeinen um derartige Coli-Stämme.

Die genannte Arbeit von Meyer und Loewenberg bezieht sich ja auch im wesentlichen auf solche infektiöse Stämme, bei denen die Untersuchung der hämolytischen Arten zu dem genannten Resultat führte, wobei allerdings noch hämolytische, aus dem Stuhle stammende

Coli-Stämme mit einbezogen wurden, so daß auch bei weiterem Ausbau der noch nicht befriedigenden serologischen Einordnung auf diesem Wege eine allgemein gültige Trennung infektiöser oder nicht infektiöser Stämme kaum zu erwarten ist[1]).

Daß eine immunbiologische Analyse, die zur Kennzeichnung eines Stammes als eines infektiösen Stammes führen würde, einem gewissen Bedürfnis entspricht, kann wohl nicht bezweifelt werden, ohne daß mit der Lösung dieser Frage etwa zugleich die Frage der uns klinisch vor allen Dingen interessierenden von der Pathogenese der betreffenden Erkrankungen der primären oder sekundären Infektion ohne weiteres verbunden wäre. Wir gelangen aber vielleicht doch auch zu klinisch nicht unwichtigen Ergebnissen, wenn wir die Abgrenzung der parasitischen und saprophytischen Stämme dürchführen, wie ja auch der Nachweis von Agglutininen im Serum der erkrankten Individuen, wie die neuen Untersuchungen von Szickeli zeigen, für die klinische Beurteilung von Wert sein können.

Wenn wir den Weg wählten, die Variabilität des Coli-Keims zur Charakterisierung des einzelnen Stammes zu benutzen, so waren wir uns natürlich darüber klar, daß damit keine Methode gefunden war, die sich im größeren Umfang auch praktisch durchführen ließe, sondern wir konnten nur erwarten, zu theoretisch interessanten Feststellungen zu gelangen. Die Analyse eines Stammes durch Variabilitätsprüfungen ist so kompliziert, zeitraubend und kostspielig, daß sie stets nur an einigen wenigen Stämmen wird durchgeführt werden können, dann allerdings vielleicht interessante Aufschlüsse über das Wesen dieser Stämme geben kann. War das von van Loghem aufgestellte Prinzip der Variabilität saprophytischer Keime im Gegensatz zur Invariabilität parasitischer Keime, von ihm an der Typhus-Coli-Gruppe, von Wolff an der Pneumokokkengruppe gezeigt, von allgemeiner Gültigkeit, so mußte sich seine Richtigkeit auch innerhalb der Coli-Gruppe selbst erweisen lassen. Hier bot sich die Möglichkeit, innerhalb einer morphologisch und biologisch verhältnismäßig einheitlichen Gruppe die sonst nicht unterscheidbaren parasitischen Erscheinungsformen, d. h. den Infektionskeim von der saprophytischen Erscheinungsform auf Grund der Variabilitätsverhältnisse abzugrenzen.

Die Untersuchungen wurden vorläufig an 3 Stämmen durchgeführt, einem Fäzes-Stamm und 2 „infektiösen" Stämmen, deren einer bei der Sektion aus dem Eiter einer Abszessniere, der andere aus dem Katheterurin eines Falles von Pyelitis gezüchtet waren.

Die Technik gestaltete sich folgendermaßen: Die Stämme wurden nach Identifizierung in bunter Reihe, hängenden Tropfen usw., von einer Kolonie der Originalplatte ausgehend, auf eine neue Platte gespatelt; von diesem „Ausgangsstamm" (richtiger der 1. Plattenpassage) wurde sofort eine größere Anzahl Schrägagarröhrchen beimpft, ungefähr ein Dutzend, um für die ganze Dauer des Versuches hinreichend Immunisierungs- bzw. Agglutinationsmaterial zur Verfügung zu haben. Gleichzeitig wurde eine Kolonie dieser 1. Plattenpassage auf eine neue Platte gespatelt; in derselben Weise wurden dann täglich frische Passagen von je 1 Kolonie angelegt. In gewissen Abständen wurde von einzelnen dieser Passagen wiederum eine größere Reihe Röhrchen beimpft. Auf diese Weise wurden von jedem Aus-

1) Wir haben im gewöhnlichen Agglutinationsversuch sämtliche von uns hergestellte Sera mit allen zur Verfügung stehenden Stämmen agglutiniert. Dabei ergaben sich wenig befriedigende Resultate. Sera einiger hämolytischer Stämme agglutinierten andere hämolytische Stämme garnicht, hingegen einige anhämolytische Stämme; Sera anhämolytischer Stämme, gleich ob „paratitisch" oder „saprophytisch", agglutinierten gelegentlich scheinbar ganz regellos hämolytische Stämme.

gangsstamm nacheinander mehrere Subkulturen gewonnen, die dann ihrerseits zur Herstellung von Immunseren sowie zur Vornahme der Agglutination benutzt wurden. Von jedem Stamm wurden 4 derartige Subkulturen untersucht.

Die immunbiologische Prüfung beschränkte sich auf die Agglutination; die Stämme wurden sämtlich über Kreuz agglutiniert und im Castellanischen Versuch geprüft. Auf die komplizierte Methodik der Rezeptoren-Analyse, wie sie von Schiff (Zeitschr. f. Immunitätsf. Bd. 33) für die Paratyphusgruppe durchgeführt worden ist und uns so wertvolle Kenntnisse vermittelt hat, wurde verzichtet, da für unsere Fragestellung die angewandte Versuchsanordnung zu befriedigenden Ergebnissen führte.

Der Umstand, daß man sich auf die einfache Agglutination ohne Absättigung nicht verlassen kann, da hierbei nicht hinreichend deutlich die Veränderungen im antigenen Aufbau der Stämme zu Tage treten, geht nicht nur aus den Untersuchungen van Loghems hervor, sondern ist vielleicht auch die Ursache dafür, daß frühere Untersuchungen, wie die von Altmann und Rauth, die mit einfacher Agglutination bzw. Komplementbildung arbeiteten, bei monatelanger Passage keine Aenderung der agglutinatorischen Eigenschaften feststellen konnten.

Die Bezeichnung unserer Stämme ist folgende:
Stamm I ist der aus dem Stuhl gezüchtete (saprophytische),

Tabelle I.

Agglutinationsversuch der Sera des (Fäces)-Stammes (I) mit Ausgangs- und Subkulturen.

Immunsera	Abgesättigt mit	Serumverdünnung						
		1:25	1:50	1:100	1:200	1:400	1:800	1:1600
Coli-Immunserum I_1	Coli-Stamm I_1	++++ f	++++ f	+++ f	++ f	++ f	+ f	± f
Kaninchen Nr. 7757	Coli-Stamm I_2	++++ g	+++ g	+++ g	++ g	+ g	—	—
	Coli-Stamm I_3	±	—	—	—	—	—	—
	Coli-Stamm I_4	—	—	—	—	—	—	—
Coli-Immunserum I_2	Coli-Stamm I_1	++++ f	++++ f	++++ f	+++ f	+++ f	++ f	+ f
Kaninchen Nr. 7761	Coli-Stamm I_2	++++ g	++++ g	+++ g	+++ g	++ g	+ g	—
	Coli-Stamm I_3	++++ g	+++ g	+++ g	++ g	±	—	—
	Coli-Stamm I_4	++++ g	+++ g	+++ g	++	—	—	—
Coli-Immunserum I_3	Coli-Stamm I_1	++++ f	+++ f	++ f	+ f	—	—	—
Kaninchen Nr. 7764	Coli-Stamm I_2	++++ g	+++ g	+++ g	++ g	+	—	—
	Coli-Stamm I_3	+++ g	+++ g	++ g	—	—	—	—
	Coli-Stamm I_4	+++ g	++ g	±	—	—	—	—

f = fein; g = grob.

Stamm I 1 der Ausgangsstamm,
Stamm I 2 die 8.,
Stamm I 3 die 16.,
Stamm I 4 die 24. Subkultur.

Stamm II, als „infektiöser" Stamm aus den Nierenabszessen gezüchtet und entsprechend Stamm I als II 1—4 bezeichnet.

Stamm III ist der Pyelitis-Stamm; die von ihm verwandten Stämme sind als III 1—4 bezeichnet.

Die Immunisierung wurde am Kaninchen vorgenommen; es wurde vorsichtig jedesmal mit einer kleinen Menge abgetöteter Bakterienkultur begonnen und in 4—6tägigen Abständen in steigenden Mengen und schließlich mit lebenden Keimen (intravenös) fortgeführt. Man muß bei der Empfindlichkeit der Kaninchen gegen die Giftstoffe des Coli stets mit Tierverlusten rechnen und daher in der Regel jede Immunisierung an mindestens 2 Kaninchen durchführen[1]). — Die Immunisierung wurde zur Erzielung gut wirksamer Sera meist 4 Wochen lang durchgeführt.

Tabelle I zeigt die Ergebnisse der einfachen Agglutination der Immunsera I 1, I 2 und I 3 mit den 4 Stämmen I 1—I 4. Das Serum

Tabelle II.

Agglutination der Sera des (Nierenabszeß)-Stammes (II) mit Ausgangs- und Subkulturen.

Immunsera	Abgesättigt mit	Serumverdünnung						
		1:25	1:50	1:100	1:200	1:400	1:800	1:1600
Coli-Immunserum II_1 Kaninchen Nr. 7760	Coli-Stamm II_1	+++ f	+++ f	++ f	++ f	+ f	—	—
	Coli-Stamm II_2	++++ f	+++ f	+++ f	++ f	+ f	—	—
	Coli-Stamm II_3	+++ f	+++ f	++ f	+ f	+ f	—	—
	Coli-Stamm II_4	++++ f	+++ f	++ f	++ f	+ f	—	—
Coli-Immunserum II_2 Kaninchen Nr. 7766	Coli-Stamm II_1	+++ f	++ f	++ f	+ f	+ f	—	—
	Coli-Stamm II_2	+++ f	++ f	++ f	+ f	+ f	—	—
	Coli-Stamm II_3	+++ f	++ f	++ f	+ f	+ f	—	—
	Coli-Stamm II_4	+++ f	+++ f	++ f	+ f	+ f	—	—
Coli-Immunserum II_3 Kaninchen Nr. 6114	Coli-Stamm II_1	++++ f	++++ f	+++ f	++ f	+ f	—	—
	Coli-Stamm II_2	++++ f	+++ f	+++ f	++ f	+ f	—	—
	Coli-Stamm II_3	++++ f	+++ f	+++ f	+++ f	++ f	—	—
	Coli-Stamm II_4	++++ f	+++ f	+++ f	++ f	++ f	—	—

f = fein; g = grob.

1) Die infektiösen Stämme erwiesen sich bei der Immunisierung übrigens als wesentlich giftiger als der Fäzesstamm, so daß trotz vorsichtiger Dosierung des Impfstoffes die Tierverluste recht erheblich waren.

I 1, also das Serum des Ausgangsstammes, agglutiniert den eigenen Stamm bis zur Höhe 1:160, den Tochterstamm I 2 bis zur Höhe 1:400 und die beiden übrigen Stämme gar nicht. Wir haben hier auch das von van Loghem bschriebene Phänomen, daß die Tochterstämme sich ungleich verhalten können und nur zum Teil vom Serum des Mutterstammes agglutiniert werden. Das Immunserum I 2 zeigt hingegen nicht nur die nahe Verwandtschaft zum Stamm I 1, sondern agglutiniert auch, wenn auch nicht ganz so hoch, I 3 und I 4. Aehnlich verhält sich Serum I 3, das den Stamm I 1 und I 2 sogar höher als den eigenen Stamm, Stamm I 4 kaum weniger hoch agglutiniert.

Tabelle II zeigt ein ziemlich einförmiges Bild, in dem bei der Ueberkreuzagglutination alle 3 Sera alle 4 Stämme annähernd gleich hoch agglutinieren.

Tabelle III verhält sich ganz ähnlich wie Tabelle II; auch hier sind beim Ueberkreuzversuch die Unterschiede in der Höhe der Agglutination unerheblich.

Tabelle III.

Agglutination des (Pyelites)-Stammes (III) mit Ausgangs- und Subkulturen.

Immunsera	Abgesättigt mit	Serumverdünnung						
		1:25	1:50	1:100	1:200	1:400	1:800	1:1600
Coli-Immunserum III_1 Kaninchen Nr. 6116	Coli-Stamm III_1	+++ g	+++ g	++ g	+ f	±	—	—
	Coli-Stamm III_2	+++ g	++ f	++ f	+ f	—	—	—
	Coli-Stamm III_3	+++ g	++ g	++ g	+ f	—	—	—
	Coli-Stamm III_4	+++ g	++ g	++ f	+ f	—	—	—
Coli-Immunserum III_2 Kaninchen Nr. 7759	Coli-Stamm III_1	+++ g	+++ g	++ g	++ f	+ f	—	—
	Coli-Stamm III_2	+++ g	+++ g	++ f	±	—	—	—
	Coli-Stamm III_3	+++ g	+++ g	++ g	++ f	±	—	—
	Coli-Stamm III_4	+++ g	+++ g	++ f	±	—	—	—
Coli-Immunserum III_3 Kaninchen Nr. 7801	Coli-Stamm III_1	+++	++	++	±	—	—	—
	Coli-Stamm III_2	+++	++	+	—	—	—	—
	Coli-Stamm III_3	+++	++	+	—	—	—	—
	Coli-Stamm III_4	+++	++	+	—	—	—	—

f = fein; g = grob.

Tabelle IV zeigt die Ergebnisse der Absättigungsversuche der Sera I 1, I 2 und I 3 mit dem Stamm I 1 bis I 4. Serum I 1 wurde

mit Stamm I 3 und I 4 nicht abgesättigt, da es diese Stämme nicht agglutiniert hatte.

Tabelle IV.

Absättigungsversuch der Immunsera $I_1 - I_3$ mit Ausgangs- und Subkulturen des Stammes I.

Immunsera	Abgesättigt mit	Agglutination mit	Serumverdünnung 1:25	1:50	1:100	1:200	1:400	Kontrolle
Coli-Immunserum I_1	Coli-St. I_2	Stamm I_1	+++ f	++ f	+ f	±	—	Kontrolle mit St. I_2 negativ
Coli-Immunserum I_2	Coli-St. I_1	Stamm I_2	±	—	—	—	—	Kontrolle mit St. I_1 negativ
		„ I_3	—	—	—	—	—	
		„ I_4	—	—	—	—	—	
	Coli-St. I_3	Stamm I_1	+++	++	+	±	—	Kontrolle mit St. I_3 negativ
		„ I_2	++++	++++	++++	+++	±	
		„ I_4	—	—	—	—	—	
	Coli-St. I_4	Stamm I_1	++	+	±	—	—	Kontrolle mit St. I_4 negativ
		„ I_2	++++	++++	++	±	—	
		„ I_3	—	—	—	—	—	
Coli-Immunserum I_3	Coli-St. I_1	Stamm I_2	++	++	+	—	—	Kontrolle mit St. I_1 negativ
		„ I_3	—	—	—	—	—	
		„ I_4	—	—	—	—	—	
	Coli-St. I_2	Stamm I_1	++	++	+	—	—	Kontrolle mit St. I_2 negativ
		„ I_3	—	—	—	—	—	
		„ I_4	—	—	—	—	—	
	Coli-St. I_4	Stamm I_1	+++	++	+	+	±	Kontrolle mit St. I_4 negativ
		„ I_2	—	—	—	—	—	
		„ I_3	—	—	—	—	—	

Es geht schon aus den Ergebnissen der 1. Versuchsreihe hervor, daß die aus der Tabelle I zu erschließende Identität der Stämme I 1 und I 2 nur eine scheinbare ist, da der Stamm I 2 nicht imstande ist, das Serum I 1 auch für den Stamm I 1 zu erschöpfen.

Serum I 2 wird vom Ausgangsstamm I 1 für sämtliche Stämme erschöpft, von Stamm I 3 hingegen für Stamm I 4, während Stamm I 1 und I 2 hoch agglutiniert werden. Die Absättigung mit Stamm I 4 ergibt ungefähr dasselbe Bild. Das Serum wird für Stamm I 3 mit erschöpft, hingegen nicht für Stamm I 1 und I 2.

Immunserum I 3 läßt sich durch Stamm I 1 wohl gegenüber I 3 und I 4 absättigen, hingegen nicht gegenüber Stamm I 2. Stamm I 2 erschöpft dasselbe Serum gegen I 3 und I 4, aber nicht gegen I 1; durch Stamm I 4 wird es für I 2 und I 3, hingegen nicht für I 1 abgesättigt.

Es ist klar, daß diese einfache immunbiologische Analyse durch den Castellanischen Versuch nicht genügt, um die komplizierten antigenen Beziehungen dieser verschiedenen Tochterstämme zueinander und zu dem Mutterstamm aufzudecken. Es könnte scheinen, als ob z. B. Stamm I 3 und I 4 weitgehend übereinstimmten, aber erhebliche Differenzen gegenüber den anderen Stämmen, die auch untereinander verschieden sind, aufweisen. Daß dabei verwandtschaftliche Beziehungen aller Stämme untereinander vorliegen, ging aus dem einfachen Agglutinationsversuch am Serum I 2 und I 3 hervor. Es genügte aber die gewählte Versuchsanordnung zweifellos, um uns einen Eindruck von der recht erheblichen Variabilität des Stammes I zu vermitteln.

Ganz anders als dieser saprophytäre Stamm verhalten sich die beiden anderen „infektiösen" Stämme. Hatte schon die Ueberkreuzagglutination eine so weitgehende Uebereinstimmung in der Titerhöhe sämtlicher von einem Ausgangsstamm abstammenden Stämme untereinander gezeigt, so bestätigte der Absättigungsversuch völlig die Annahme einer Identität der Ausgangskultur und sämtlicher Subkulturen. Es kann auf eine Wiedergabe der Tabelle für den Absättigungsversuch bei Stamm 2 und 3 verzichtet werden, da alle von dem Ausgangsstamm und von den Tochterstämmen hergestellten Immunsera von jedem einzelnen der 4 Stämme für alle Stämme völlig erschöpft wurden. Die Agglutination war also in allen Fällen völlig negativ.

Wir sehen also, daß das Ergebnis der Versuche die Vorstellung, aus der heraus sie angestellt worden sind, völlig bestätigt hat. Der eine Stamm, sicher saprophytärer Herkunft, erweist sich als instabil, als zur Variation neigend, die beiden anderen Stämme hingegen sind „fixierte" Typen, d. h. solche, die bei den gewöhnlichen Plattenpassagen keine Neigung haben, Formen von anderer antigener Beschaffenheit als der Ausgangsstamm zu bilden. Diese Feststellung ist vielleicht für unsere Vorstellung vom Wesen des parasitischen Keimes einerseits, des saprophytischen Keimes andererseits nicht unwichtig.

Mit dieser Feststellung ist natürlich nur ein kleiner Teil der angeschnittenen Fragen beantwortet, hingegen bleibt die Frage der Entstehung der differenten Typen noch offen. Die Tatsache, daß derjenige Keim, der im Infektionsverhältnis gestanden hat, eine feste Typisierung aufweist, also einheitlich und fixiert ist, erklärt noch nicht das Zustandekommen der jedem einzelnen von ihnen zukommenden serologischen Besonderheit. Es muß Gegenstand weiterer Untersuchung sein, ob wir in der Lage sind, bestimmte serologische Typen experimentell zu erzeugen, wie dies bei einem Teil der Pneumokokkentypen gelungen ist — vielleicht durch Ueberführung aus dem saprophytischen in den parasitischen Zustand —, ob wir auf dem zuletzt von Meyer und Löwenberg beschrittenen Wege serologischer Klassifizierung als Grundlage derartiger Untersuchungen weiterkommen, oder letzten Endes — wie bei den Pneumokokken der sog. Gruppe IV — die Typisierung des einzelnen infektiösen Stammes mit der Individualität des Keimträgers in Beziehung setzen müssen und im erweiterten Sinne nach dem angeführten Worte Escherichs von „persönlichen Coli-Rassen" zu sprechen genötigt sind.

Zusammenfassung.

An dem Beispiel eines saprophytischen und zweier parasitischer Coli-Stämme wird gezeigt, daß der erstere zu Variationen neigt, während die beiden anderen Typen fest sind.

Schrifttum.

Altmann und Rauth, Ztschr. f. Immunitätsf. Bd. 7. 1910. S. 623. — van Loghem, Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 83. S. 401 u. Bd. 88. S. 257. — Jeney, ebenda Bd. 91. — Meyer und Löwenberg Klin. Woch. 1924. Nr. 19 — Prausnitz, Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 91. — Silber, ebenda. Bd. 91. — Szickeli, ebenda. Bd. 91. — Yamaguti, ebenda. Bd. 90. H. 5. — Wolff, Virchows Archiv. Bd. 244. S. 97.

Nachdruck verboten.

Biologisches über den Erreger der Coli-Pyelo-Cystitis.

2. Mitteilung: Tierversuche.

[Aus der Universitäts-Kinderklinik Graz (Prof. Dr. Hamburger).]

Von Dr. **Hermann Czickeli**, Assistent der Klinik.

Die Agglutinationen der Patientensera mit den aus den Harnen gezüchteten Bact. coli hatten gezeigt, daß unter 17 Coli-Stämmen nur 1 (Stamm 2) immer agglutiniert wurde. Zur Kontrolle der in der 1. Mitteilung publizierten Ergebnisse zog ich nun den Tierversuch heran. Durch 2malige subkutane Injektion einer lebenden Coli-Bakterien-Aufschwemmung wurden Tiere vorbehandelt, und zwar wurde 1 Oese Bakterien in 2 ccm physiol. Kochsalzlösung aufgeschwemmt. Die 2. Injektion erfolgte am 7. Tage nach der 1. und die Blutabnahme am 13.—15. Tag (von der 1. Injektion gerechnet). Anfangs arbeitete ich mit Kaninchen, mußte aber, der großen Kosten halber, zu Meerschweinchen und Ratten übergehen.

Agglutinationen wurden angestellt:

1) Mit den Seris von Kaninchen und Ratten, welche in der oben geschilderten Weise mit „Cystitis coli" vorbehandelt worden waren.

Tabelle II.

Agglutinationen mit den Seris von Kaninchen (K) und Ratten (R).

Coli-Stamm	K 1	K 1—8	K 9	K 10	R 2	R 4	R 5	R 6	R 7	R 11
1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
2	1:1280 +	1:640 +	1:40 +	1:160 +	1:160 +	1:160 +	1:160 +	1:160 +	1:160 +	1:160 +
3	0	1:80 +	0	0	0	0	0	0	0	0
4	1:1280 +	1:320 +	1:40 +	1:40 +	1:40 +	1:160 +	1:160 +	1:40 +	1:40 +	1:160 +
5	0	?	0	0	0	0	1:160 +	0	0	0
6	0	1:320 +	0	0	0	0	0	1:40 +	0	0
7	1:40 +	1:40 +	0	0	0	0	0	1:10 +	0	0
8	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
9	0	0	1:40 +	0	0	0	0	0	0	0
10	0	0	0	?	0	0	0	0	1:10 + 1:40 ?	0
11	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
12	0	.	0	0	0	0	0	0	0	0
13	1:40 +	.	0	0	0	?	0	1:10 +	0	?
14	1:160 +	.	0	0	0	1:10 +	0	1:10 +	0	1:10 ?
15	1:40 +	.	0	0	0	1:40 +	0	0	0	1:40 +
17	0	.	0	0	0	0	0	0	0	0

Legende:

1. Meyer, M.
2. Friedau
3. Pachanegg
4. Steinbauer ♂
5. Sick
6. Flakus
7. Rauch
8. Meyer, M. (neu gezüchtet)
9. Spadiot
10. Pölzl
11. Meyer, F.
12. Wadas
13. Reiter
14. Pollitzer
15. Muhry
17. Groß.

2) Mit den Seris von Ratten und Meerschweinchen, welche mit „Darm-coli" vorbehandelt worden waren.

Das Ergebnis der Tierversuche mit „Cystitis coli" habe ich in der vorstehenden Tabelle zusammengefaßt.

Auch hier ist die am meisten ins Auge springende Tatsache, daß die Sera sämtlicher vorbehandelter Tiere den Stamm 2 und 4 agglutieren (wenn zwar oft nur bis zu einem niedrigen Titer), während die Kontrolluntersuchungen mit dem Blute von 12 Meerschweinchen bzw. Kaninchen immer negativ ausfielen.

Der Stamm 2 erweist sich auch im Tierversuch als besser agglutinabel als der ihm in dieser Fähigkeit am nächsten stehenden Stamm 4. Ebenso zeigt sich beim Kaninchen, welches durch Injektion der Stämme 1—8 zur Bildung eines für diese Stämme polyvalenten Serums angeregt wurde, daß das Serum den Stamm 2 am besten, dann an 2. Stelle den Stamm 4 agglutiniert. In gleicher Höhe wie der Stamm 4 wird nur noch der Stamm 6 agglutiniert (1:320). Außer den genannten Stämmen 2 und 4 findet man, daß kein Stamm auch nur halbwegs konstant agglutiniert wird.

Weiter ist auffällig, daß man, was wohl schon beschrieben wurde, aber nicht allgemein bekannt ist, durch Vorbehandlung von Tieren ein Serum erzielen kann, welches nicht den zur Vorbehandlung verwendeten Stamm, sondern einen oder mehrere andere agglutiniert, so das Serum der Tiere, welche mit Stamm 1 und 11 vorbehandelt worden waren. Etwas ähnliches fand Langer für einige Diphtherie-Stämme und Boddaert bei einem Paratyphus-Stamm.

Die „Cystitis-Coli-Stämme" 1 und 11 zeigen überhaupt die weitgehendste Aehnlichkeit miteinander. Sie stammen von 2 an Pyelo-Cystitis erkrankten Mädchen derselben Familie, sind beide beweglich und verhalten sich sowohl in bezug auf ihr Wachstum, als auch in ihrer Agglutinations- bzw. Immunisations-Fähigkeit fast völlig identisch. Die verschiedene Höhe des Agglutinationstiters möchte ich auf die Verschiedenheit der Tiere zurückführen.

Die Tatsache, daß in den untersuchten Fällen der Stamm 2 konstant agglutiniert wird, brachte meinen Vorstand, Prof. F. Hamburger, auf den Gedanken, daß es sich dabei um ein mehr allgemein gültiges Gesetz handle. Sämtliche untersuchten Stämme stehen in einem indirekten Agglutinationsverwandtschaftsverhältnis (Prof. Hamburger) zu dem Stamm 2, weniger zu dem Stamm 4. Indirekt nennt er die Verwandtschaft deshalb, weil ja das Serum, welches die Agglutination bewirkt, nicht durch den Stamm 2 zur Agglutininbildung für diesen angeregt wurde, sondern durch irgend einen der aus dem Harne Cystitiskranker Kinder gezüchteten Coli-Stamm, der mit dem Stamm 2 nur das gemeinsam hat, daß er den in der 1. Mitteilung angeführten Kriterien für das Bact. coli entspricht.

Ist die „indirekte Agglutinationsverwandtschaft" nur beim Bact. coli vorhanden, oder handelt es sich hier um ein allgemein gültiges Gesetz? Wenn das auch für andere Bakterien zutrifft, so hat man damit ein Mittel in der Hand, die Zugehörigkeit eines Bakteriums zu einer Gruppe und anderseits die Erkrankung aus dem Serum zu diagnostizieren.

Die ganze Schwierigkeit beruht dann also darin, einen Stamm zu finden, der eine solche gute Agglutinabilität aufweist, daß er durch jedes Agglutinin, welches durch Immunisierung des Tieres mit irgend

einem Bakterium derselben Art (z. B. Coli, Pneumokokken etc.) gebildet wurde, agglutiniert wird. Das wäre ja zur Entscheidung der Zugehörigkeit von Pneumokokken, Meningokokken u. a. von großer Bedeutung. Vielleicht ist es bei den letztgenannten Bakterien nur noch nicht gelungen, den entsprechenden Teststamm aufzufinden, der dann für die Diagnose des Bakterium verwendet werden könnte. Die Schwierigkeiten sind freilich sehr große. In diesem Falle hatte ich das Glück, daß der gut agglutinable Stamm schon als der 2. zur Untersuchung gekommen war. Er hätte ebensogut der 37. oder 100. sein können. Ein Rezept, wie man den gut agglutinablen Stamm findet, kann man natürlich nicht angeben, und außerdem ist es noch eine Frage, ob der Stamm seine Eigenschaften behält. Die Agglutinabilität scheint auch in unserem Fall nachzulassen, weniger für den Stamm 2, als für den Stamm 4. (Zwischen den 1. und letzten Agglutinationen, z. B. 18, 19, 20, 21 etc. liegt genau 1 Jahr). Während früher jedesmal, wenn der Stamm 2 agglutiniert wurde, das auch für den Stamm 4 wenn auch geringer, der Fall war, sehen wir bei den Agglutinationen des letzten „Cystitis-coli"-Stammes (23) sowie der „Darm-coli", daß in 7 Fällen wohl der Stamm 2, nicht aber der Stamm 4 agglutiniert wurde. Mit der Ueberimpfung kann dieser Unterschied gegen früher nicht erklärt werden, da beide Stämme immer gleichzeitig ca.

Tabelle III.

Agglutinationen mit den Seris von Ratten (R) und Meerschweinchen (M), welche durch 2malige Injektion des betreffenden Stammes vorbehandelt worden waren.

Coli-Stamm	R 1	R 2	R 4	M D 18	M D 19	M D 20	M D 21	M D 34	M D 36	M D 37	M D 38
1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
2	1:40 + 1:160 ?	1:160 +	1:40 +	1:10 + 1:40 ?	1:10 + 1:40 ?	1:10 +	1:10 +	1:160 +	1:40 + 1:160 ?	1:10 + 1:40 ?	1:10 +
3	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
4	1:10 +	1:10 +	1:10 +	0	0	1:10 +	0	0	0	0	0
23	0	0	0	1:10 +	0	0	0	0	0	0	0
D 18	0	0	1:40 +	1:160 + 1:640 ?	1:40 + 1:160 ?	1:10 ?	0	0	0	0	0
D 19	0	0	0	0	1:160 +	0	0	0	1:10 + 1:40 ?	0	0
D 20	0	0	0	0	0	1:40 +	0	0	0	0	?
D 21	0	0	0	1:160 + 1:640 ?	1:10 +	1:10 +	1:160 + 1:640 ?	0	0	1:10 +	0
D 34	.	.	.	.	.	.	.	1:160 + 1:640 ?	1:10 +	0	0
D 36	.	.	.	.	.	.	.	0	1:10 + 1:40 ?	0	0
D 37	.	.	.	.	.	.	.	0	0	1:10 ?	0
D 38	.	.	.	.	.	.	.	0	0	0	1:40 +

Legende: Die Stämme 1, 2, 3, 4, 23 sind aus dem Harn Cystitis-kranker Kinder gezüchtete Coli-Stämme. Die Stämme 18, 19, 20, 21, 34, 36, 37, 38, vor welche als Kennzeichen ein D gesetzt ist, sind Darm-Coli, welche aus dem Faeces von 8—12 Jahre alten Knaben gezüchtet wurden.

1. Meyer, M.
2. Friedau
3. Pachanegg
4. Steinbauer ♂
23. Schadlbauer ♂
D 18. Scherübl ♂
D 19. Konrad ♂
D 20. Foggenberger ♂
D 21. Nießl ♂
D 34. Hermann ♂
D 36. Kahr ♂
D 37. Schwamminger ♂
D 38. Hitty ♂.

alle 3—4 Wochen überimpft wurden. Worauf die Mutation der Agglutinabilität des Stammes 4 zurückzuführen ist, wäre noch zu erforschen.

Die Tatsache, daß das Serum aller mit „Cystitis-coli“ vorbehandelten Tiere Agglutinine für den Stamm 2 enthielt, gab uns nun auch das Mittel in die Hand, der zu Beginn der Arbeit gestellten Frage nahezutreten, gibt es ein auf bakteriologisch-serologischem Wege vom mit „Darm-coli“ vorbehandelt worden waren, ausnahmslos den handlung von Tieren mit „Cystitis-coli“ eine Agglutination des „Darmcoli“ erreicht werden kann, und vice versa durch Vorbehandlung mit „Darm-coli“ eine Agglutination der „Cystitis-coli“, kann die Unterscheidung nicht gemacht werden.

Die Ergebnisse der daraufhin angestellten Untersuchungen bringt die Tabelle III. —

Wir sehen auf der Tabelle, daß sowohl die Sera der Tiere, welche durch Immunisierung mit „Cystitis-coli“, als auch jener Tiere, welche mit „Darm-coli“ vorbehandelt worden waren, ausnahmslos den Stamm 2 agglutinieren. Die Agglutination erreicht in 3 Fällen nur den Titer 1:10, in 2 Fällen 1:40?, $2 \times 1:160$? und $2 \times 1:160$.

Der Stamm 4 wird nur in 4 Fällen und auch da nur bis zum Titer 1:10 agglutiniert. 3 von den 4 positiven Reaktionen gibt die Agglutination mit den Seris der mit „Cystitis-coli“ vorbehandelten Tieren.

Die seltene Agglutination des Stammes 4 führe ich auf eine in den letzten 3 Monaten eingetretenen Aenderung seiner Agglutinabilität zurück. Das Serum der Ratte 1 und 2 agglutiniert keinen der „Darm-coli“-Stämme, wohl aber das Serum der Ratte 4.

Im umgekehrten Versuch, Vorbehandlung der Tiere mit „Darmcoli“ und Agglutination ihrer Sera mit „Darm- und Cystitis-coli“ finden wir, daß alle 8 Sera den Stamm 2 und auch den eigenen zur Immunisation verwendeten agglutinieren.

Da in sämtlichen untersuchten Fällen die Vorbehandlung der Tiere mittels „Darm-coli“ ein Serum erzeugt, welches sowohl den betreffenden zur Injektion verwendeten Stamm als auch unsern Teststamm 2 agglutiniert, ergibt sich daraus wohl der Schluß, daß ein prinzipieller Unterschied zwischen „Darm- und Cystitis-coli“ nicht besteht. Die Ursache, warum ein Teil der Kinder an Coli-Pyelo Cystitis erkrankt, kann also aller Wahrscheinlichkeit nach nicht in einem besonderen „Cystitis-coli“ gesucht werden, da die Existenz eines solchen nur Pyelo-Cystitis erregenden Coli-Stammes mit den angewendeten Methoden nicht nachgewiesen werden konnte.

Zusammenfassend will ich nun die Ergebnisse der Arbeit anführen:

1) Die Frage, ob es ein „Cystitis-coli“ gibt, muß in dem Sinne beantwortet werden, daß eine Unterscheidung gegen das „Darm-coli“ weder auf bakteriologischem, noch auf serologischem Wege gemacht werden kann.

2) Im Laufe der Untersuchungen gelangte ich zu der Feststellung, daß es sehr gut agglutinable Stämme gibt, die regelmäßig durch das Serum Cystitiskranker Kinder, bzw. das Serum von Tieren, welche vorher mit „Cystitis-coli“, weniger von solchen, die mit „Darm-coli“ vorbehandelt worden waren, agglutiniert werden.

3) Das Serum gesunder Kinder agglutiniert diese Coli-Stämme (2 und 4) nicht, bzw. nur in ca. 3 Proz. der Fälle, und zwar ausnahmslos Mädchen, sodaß die Annahme berechtigt erscheint, daß diese 3 Proz. vor kürzerer oder längerer Zeit eine Coli-Pyelo-Cystitis durchgemacht haben.

4) Die Agglutination des Stammes 2 und 4 spricht mit größter Wahrscheinlichkeit für eine Erkrankung durch Coli-Bakterien.

5) Es besteht eine „indirekte Agglutinationsverwandtschaft" (F. Hamburger) zwischen dem Stamm 2 und den Erregern in den geprüften Coli-Cystitis-Fällen, auch wird durch Vorbehandlung von Tieren mit „Darm-coli" ein Serum erzeugt, welches den Stamm 2 agglutiniert. Diese Methode erscheint zur Abgrenzung der Coli-Bakterien geeignet.

6) Zur Diagnosenstellung bei ColiCystitis hat die indirekte Agglutions-Methode zwar geringe Bedeutung, jedoch wäre nach dem Vorschlage von F. Hamburger zu erforschen, ob es nicht gelingt, auch für andere Bakterien (Pneumokokken, Meninggokokken, Diphtherie-Bazillen etc.) solch gut agglutinable Stämme zu finden, welche als Teststämme verwendet werden können.

7) Der Coli-Stamm 4 weist eine Mutation seiner Agglutinabilität im Laufe 1 Jahres auf.

Literatur.

Escherich, Ueber Cystitis bei Kindern durch das Bact. coli commune. (Mitteil. d. Ver. Aerzte in Steiermark. 1894.) — Paltauf, Die Agglutination. (Kolle Wassermann, Handb. d. path. Mikroorganism. 1913/II.) — Conradi u. Bierast, Bact. coli commune als Krankheitserreger. Ibid. 1913/VI. — Pfaundler, Eine neue Form d. Serumreaktion auf Coli u. Proteus-Bazillen. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Bd. 23, S. 1898.) — Klieneberger, Studium über Coli-Agglutination. (Dtsch. Arch. f. klin. Med. [?].) — Zeiß, Der diagnostische Wert der Darm-Coli-Agglutination. (Zeitschr. f. Kinderheilk. 1913. Bd. 8.) — Weiß, Zur Serodiagnostik des Bact. coli, Inaug. Dissert. München 1911. — Geiße, Ueber Coli-Agglutinine. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 46.) — Kodama u. Krasnogorski, Ref. Centralbl. f. Bakt. 1913, Abt. I. Ref. Bd. 69. — Rach u. Reuß, Zur Aetiologie d. Cytitis bei Knaben im Säuglingsalter (Jahrb. f. Kinderheilk. Bd. 74. 1911.) — Jehle, Individuelle Coli-Flora im Kindesalter. (Wiener klin. Woch. Bd. 25. 1910.) — Gieszykiewiez, Ueber Coli-Mit- und Paragglutination. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 78.) — Kramer, Ueber Coli-Agglutinine. (Monatsschr. f. Kinderheilk. Bd. 24/6.) — Helmholz u. Millikin, Ueber die Beziehung der Infektion der oberen Luftwege zur Pyelitis. (Ebenda Bd. 26/3.) — Langer, Die Agglutination der Diphtherie-Bazillen. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 78.)

Weitere Literaturangaben bei:

Göppert, Ergeb. d. innern Med. u. Kinderheilk. Bd. 2. — Tiemich, Jahrb. f. Kinderheilk. Bd. 74. 1911.

Nachdruck verboten.

Beiträge zur diagnostischen Bewertung der Weil-Felix-Reaktion.

[Aus dem hauptstädt. Hygien.-Bakt. Institut in Budapest (Direktor: Prof. Dr. Bernhardt Vas).]

Von Dr. **Jlona von Joós.**

Der positive Ausfall der Weil-Felix-Reaktion spricht, wie dies jetzt schon allgemein anerkannt ist, fast ganz sicher für das Bestehen eines Typhus exanthematicus. Manchmal kommt es jedoch vor, daß wir eine ausgesprochen positive Reaktion auch in Fällen erhalten, in welchen Flecktyphus mit Bestimmtheit ausgeschlossen werden kann. Much und Soucek berichten über 2, Prausnitz über 1 derartigen Fall. Diese Erkrankungen wurden seitens der Beobachter als Proteus-Infektionen betrachtet. Es schien daher sehr naheliegend, durch Laboratoriumsversuche zu entscheiden, ob in serologischer Hinsicht ein Unterschied zwischen einer gewöhnlichen Proteus-Infektion und einer Flecktyphuserkrankung besteht.

Derartige Untersuchungen wurden von Hamburger und Bauch, Weil und Felix, Csépai, Jakobitz, Braun und Salomon angestellt. Sie fanden, daß die Agglutinationsfähigkeit des Fleckfieberserums gegenüber den X_{19}-(Proteus)-Bazillen nach deren 1stdig. Erwärmung bei 56° C schwächer wird oder gänzlich verschwindet, während das Serum des experimentell mit Proteus immunisierten Kaninchens bei dieser Behandlung keine Veränderung aufweist. Ein weiterer Schritt zur Erkenntnis dieser Erscheinung war es als man Menschen mit X_{19}-Bazillen immunisierte und auf diese Weise vergleichende Untersuchungen anstellen konnte. Werner und Leoneau impften in Rumänien 12 angeblich gesunde Personen mit der Weil-Felix-Kultur. Ihre Untersuchungen stimmen mit Ergebnissen der Tierversuche überein. Nach der Meinung von Prausnitz muß man aber bei der Beurteilung dieser Impfversuche in Betracht ziehen, daß in Rumänien gerade zur Zeit dieser Untersuchungen eine Flecktyphus-Epidemie herrschte und demnach eine vorangegangene lichte Erkrankung mit Bestimmtheit nicht ausgeschlossen werden konnte.

Um diese Fehleruqelle gänzlich auszuschalten, hat Prausnitz Untersuchungen an sich selbst angestellt. In 3—4tägig. Intervallen injizierte er sich 3mal subkutan eine Aufschwemmung einer 24stdig., gut wachsenden X_{19}-Kultur (H-Form) in verschiedenen Verdünnungen. Die Blutentnahme wurde 1 Monat nach der letzten Impfung vorgenommen. Das Serum ergab eine starke Agglutination mit X_{19}-Bazillen, und die Höhe des Titers änderte sich auch nach dem Erwärmen nicht. Die qualitative Beschaffenheit der Agglutination zeigte gleichfalls keine Abweichung von der typischen Weil-Felix-Reaktion.

Nach all dem würde sich also das Serum eines mit X_{19}-Proteus-Bazillen entweder auf experimentellem Wege oder durch natürliche Infektion immunisierten Menschen durch seine Thermostabilität vom Serum eines Flecktyphuskranken unterscheiden, das im Gegensatz hierzu eine ausgesprochene Thermolabilität aufweist.

Prausnitz verwertete mit Erfolg dieses Phänomen in der Praxis bei einem 14 Mon. alten Kinde, das seit mehreren Monaten auf der Kinderklinik in Breslau lag und bei dem von einer von außen herrührenden Infektion keine Rede sein konnte.

Nach Prausnitz ist der Agglutinationsversuch auf die Weise auszuführen, daß man einen Teil des Krankenserums in einem Wasserbade von 56° C 1 Std. lang erwärmt (inaktiviert) und dann die Weil-Felix-Reaktion parallel mit dem aktiven und dem inaktivierten Serum anstellt. Wenn die Reaktion mit dem aktiven Serum positiv ausfällt, in dem inaktivierten hingegen schwächer wird oder gar verschwindet, wäre dies ein Beweis für eine Flecktyphus-Erkrankung. Wenn aber die Intensität nach dem Erwärmen sich nicht ändert, spricht dies gegen Flecktyphus.

Zur Klärung dieses Phänomens wird im allgemeinen agenommen, daß die Weil-Felix-Agglutination eine nicht unmittelbare X_{19}-Immunisationsreaktion ist, sondern nur als Paragglutination aufgefaßt werden kann.

In jüngster Zeit hat K. Sonnenschein im Anschluß an einen Fall von Proteus-Infektion Untersuchungen angestellt und hierbei die Angaben von Prausnitz über die Thermolabilität des Serums von mit Proteus-Infizierten im Gegensatze zur Thermolabilität der Fleckfiebersera bestätigen können.

Der Umstand, daß in Budapest sowohl im vorigen als auch im laufenden Jahre gehäufte Fälle von Fleckfieber vorkamen, gab uns willkommenen Anlaß, diese für die Fleckfieberdiagnose äußerst wichtige Beobachtung von Prausnitz über das verschiedene Verhalten von Proteus-Infizierten und Fleckfieberkranken auf ihre Richtigkeit zu prüfen.

Wir haben das Prausnitzsche Verfahren in 37 klinisch genau beobachteten und teilweise auch durch die Sektion als Flecktyphus bestätigten Fällen angewendet.

Die Weil-Felix-Reaktion wurde in jedem Falle mit dem aktiven und dem inaktivierten Krankenserum, im Verlaufe der Krankheit sogar mehrmals, angestellt. Gleichzeitig haben wir die Sera auch mit Typhus, Paratyphus A und B eingestellt. Zur Ausführung der Weil-Felix-Reaktion bedienten wir uns der von G. Wolff vorgeschlagenen Methode und arbeiteten in folgender Weise: Die 16—18stdig., gut entwickelte X_{19}-Agarkultur wird mit 2—2,5 ccm Kochsalzlösung abgespült und von dieser Emulsion zu je 1 ccm Serumverdünnung ein Tropfen gegeben. Die Serumverdünnung beginnen wir mit 1:25 und setzen sie bis mindestens 1:200 oder 1:400 fort, natürlich unter Anwendung der entsprechenden Kontrolle. Die Reaktion wird nach 2stdig. Stehen im Thermostat abgelesen. Die benützte X_{19}-Kultur haben wir von Zeit zu Zeit mit einem sicheren Flecktyphusserum auf ihre Agglutinabilität kontrolliert. Parallelversuche wurden mit dem Bien-Sonntagschen alkoholischen Flecktyphusdiagnostikum ausgeführt.

Das Prausnitzsche Verfahren erwies sich bei unseren Untersuchungen unter 37 Fällen 25mal als positiv, indem die Weil-Felix-Reaktion mit dem inaktivierten Serum in 11 Fällen ganz ausblieb, in 14 Fällen zwar nicht vollständig verschwand, jedoch eine merkliche Abschwächung erkennen ließ. Auch war insofern ein qualitativer Unterschied von der normalen Weil-Felix-Reaktion bemerkbar, als die Agglutination auch bei niedrigen Verdünnungen eher von feinflockigem Aussehen war.

Im Gegensatz zu diesem Resultat versagte aber das Prausnitzsche Verfahren in 12 unserer Fälle vollkommen. Es handelte sich durchgehends um klinisch typische Fälle, in welchen die Agglutination mit dem erwähnten Serum weder verschwand, noch überhaupt eine Abschwächung zeigte, hingegen sowohl qualitativ wie quantitativ vollkommen unverändert blieb und dieses Verhalten auch bei wiederholt während des Krankheitsverlaufes ausgeführten Untersuchungen beibehielt.

Wegen Raummangels möchte ich von den untersuchten Fällen nur einige hier anführen.

Fall 1 (Protokoll Nr. 3673). Weil-Felix-Reaktion mit aktivem Serum 1:1600 positiv, mit inaktiviertem negativ. 2 Tage später ist die Agglutination mit aktivem Serum 1:3200 positiv. Nach einigen Tagen Exitus. Bei der Sektion bzw. histologischer Untersuchung auf Flecktyphus hinweisende Veränderungen. Mit aus der Leiche gewonnenem Serum bzw. Liquor war die Weil-Felix-Reaktion bis 1:1600 bzw. 1:200 positiv.

Fall 8 (Prot. Nr. 1201). Weil-Felix-Reaktion 1:25000 positiv, nach dem Erwärmen negativ. Sektionsdiagnose: Flecktyphus.

Im folgenden seien einige Fälle angeführt, in welchen nach dem Erwärmen die Agglutination nicht gänzlich verschwunden war, sondern der Unterschied sich nur in einer Abnahme des Titers des inaktivierten Serums bemerkbar machte.

Fall 2 (Prot. Nr. 1046) Weil-Felix-Reaktion 1:6400 positiv, nach dem Erwärmen 1:200 positiv. Nach 3 Tagen Agglutinationstiter des aktiven Serums 1:6400, des inaktivierten 1:100. Klinisch: Flecktyphus.

Fall 10 (Prot. Nr. 202). Weil-Felix-Reaktion 1:25000 positiv, nach dem Inaktivieren 1:1600. Klin. Diagnose: Flecktyphus.

Fall 36 (Prot. Nr. 5029). Weil-Felix-Reaktion mit dem aktiven Serum 1:1600, mit dem inaktivierten 1:100. Exitus. Diagn.: Flecktyphus.

Von unseren negativen Fällen seien hier die Folgenden erwähnt:

Fall 11 (Prot. Nr. 1227). Die Weil-Felix-Reaktion ist sowohl mit dem aktiven als auch mit dem inaktivierten Serum bis 1:3200 positiv. Klin. resp. Sektions-Diagnose: Flecktyphus.

Fall 14 (Prot. Nr. 1427). Weil-Felix-Reaktion mit aktivem und inaktiviertem Serum 1:800 positiv. Klin. Diagnose: Flecktyphus.

Fall 31 (Prot. Nr. 4969). Weil-Felix-Reaktion 1:400 positiv mit aktivem und inaktiviertem Serum. Klin. Diagnose: Flecktyphus.

Nach unseren Untersuchungen hat demnach das zur Unterscheidung von Proteus-Infektion und Flecktyphuserkrankung von Prausnitz empfohlene Verfahren in einer ziemlich großen Zahl (32,6 Proz.) ganz sicherer Fälle vollkommen versagt, so daß gegen dessen praktische Anwendung zu differentialdiagnostischen Zwecken gewichtige Bedenken bestehen.

Es könnte vielleicht angenommen werden, daß beim negativen Ausfall des Prausnitzschen Verfahrens in sicheren Flecktyphuserkrankungen es sich eigentlich um eine Mischinfektion handelt. Das klinische und serologische Verhalten von schweren, manchmal auch tödlich verlaufener Proteus-Erkrankungen scheinen uns in dieser Annahme zu bestärken.

Literatur.

Hamburger u. Bauch, D. med. Woch. 1917. Nr. 36 u. 39. — Csépai, Wien. klin. Woch. 1917. H. 38; 1917. H. 36—39. — Braun u. Salomon, Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 81 und 82; D. med. Woch. 1918. Nr. 3. — Prausnitz, Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 84. 1920. — Wolf, D. med. Woch. 1917. H. 48; Zeitschr. f. Hyg. Bd. 89. 1919; Ergebn. d. Hyg. Bd. 5. — Much u. Soucek, D. med. Woch. 1917. S. 1191. — C. Sonnenschein, ebd. 1924. Nr. 4.

Nachdruck verboten.

Beitrag zur Frage der Wiederinfektion bei experimenteller Kaninchensyphilis.

[Aus dem Kaiser-Wilhelm-Institut für experimentelle Therapie- und Biochemie in Berlin-Dahlem.]

Von **Hans Reiter.**

Bis 1913 herrschten, trotz des Vorliegens einer großen Zahl hervorragender wissenschaftlicher Arbeiten, über die Immunitätsverhältnisse bei experimenteller Syphilis noch unklare Vorstellungen, zum Teil (Truffi) wurde eine relative oder absolute Immunität anerkannt,

z. T. eine echte Immunität geleugnet. Nach Hodenimpfung geheilter und erkrankter Tiere hatte man positive Reinokulationen beobachtet. Die 7—9 Wochen nach einer Erstinfektion ausbleibende Wirkung einer 2. Inokulation faßte man als „Hautimmunität" auf und erst in den letzten Jahren verdichteten sich unsere auf exakter experimenteller Syphilisforschung aufbauenden Ergebnisse zu einer immer gediegener werdenden Erkenntnis des syphilitischen Infektions- und Immunitätsprozesses.

Brown und Pearce gelang eine positive Superinfektion bei Tieren im Frühstadium nach einer spezifischen Behandlung, und zwar entsprach das Reinokulationsprodukt solcher Tiere in Inkubationszeit, Aussehen, Folgeerscheinungen etc. den Schankern erstmalig infizierter Tiere und zeigte zuweilen eine besonders rasche Entwicklung, — bei nicht behandelten kam eine positive Wiederinfektion nur ausnahmsweise, und zwar mit schwachem Effekt zustande.

Einen wichtigen Fortschritt bedeutete die Veröffentlichung von Kolle im Jahre 1922. Aus seiner Arbeit ging unzweideutig hervor, welche ausschlaggebende Wirkung dem Termin der Wiederinfektion zukam. Innerhalb der ersten 60 Tage nach der 1. Infektion war das Ergebnis in 50—60 Proz. positiv, zwischen 60 und 90 Tagen nur noch gelegentlich. Lagen zwischen 1. und 2. Infektion mehr als 90 Tage, konnte stets nur ein negatives Infektionsergebnis gebucht werden. Es handelte sich also um eine Infektionsimmunität, die an die Anwesenheit von Infektionserregern im Körper gebunden ist. Kolle behandelte syphilitische Kaninchen 3, 15, 20, 25, 30, 45, 60, 90, 120 Tage nach der ersten Infektion mit großen Salvarsandosen ($^2/_3$ der Dosis tolerata) und reinfizierte 110—120 Tage nach der Erstinfektion. Die Sterilisierung gelang in der Regel nur innerhalb der ersten 45 Tage, dagegen nie nach 90 Tagen; aber selbst innerhalb der ersten 50 Tage erfolgte 3mal und innerhalb der ersten 3 Tage einmal keine Sterilisierung. (Die Differenzen dürften sich durch die individuell verschiedene Reaktion auf Salvarsan erklären.) Eine positive Wiederinfektion würde demnach ein Zeichen dafür sein, daß die erste Infektion biologisch ausgeheilt und eine Befreiung des Organismus von Spirochäten eingetreten ist.

Von anderer Seite (Mulzer, Uhlenhuth u. a.) war festgestellt werden, daß durch eine aktive intravenöse oder subkutane Immunisierung von Kaninchen mit virulentem oder abgeschwächtem Hodenvirus keine prophylaktische oder therapeutische Wirkung zu erzielen war, und daß das Serum so behandelter Tiere keinen Schutz oder Heilerfolg aufwies, abgesehen davon, daß auch eine deutliche Agglutination und Präzipitation fehlte.

Steinfeld impfte zu wiederholten Malen (bis zu 8) in 2- bis 3wöchentlichen Intervallen lokal syphilitische Kaninchen nach Exstirpation der syphilitischen Hoden intravenös unter Verwendung dieses exstirpierten Hodenmaterials bei der 1. Injektion — und sah eine positive Superinfektion nur bei erwachsenen Albinos, nicht bei Dunkelhaarigen. Steinfeld gelang keine Wiederinfektion nach sogen. „Spontanheilung", selbst nicht bei serologisch nach Sachs und Georgi negativ gewordenen Tieren. Er hält die beobachteten Erscheinungen für eine Superinfektion, nicht eine Reininfektion und faßt demnach den Vorgang auf wie Buschke und Kroo, die an Rekurrensmäusen mit absoluter Sicherheit nachwiesen, daß selbst unter Verwendung des

Nr.	I. Infektion						II. Infektion				III. Infektion			
	Tier-Protokoll	Datum	Pa.-Stamm	Sonstiges	Ergebnis	Spezif. Behandl. ? Wochen nach Primärinfektion	Datum	Wochen nach Primärinfektion	Pa.-Stamm	Ergebnis	Spezifische Behandlung Datum	Datum	Pa.-Stamm	Ergebnis
1	969	12. 1. 22	B. 49	+ Normalserum	$+++_{8}$	.	16. 3. 23	53	B. 49	—				
2	379	30. 2. 22	B. 36	+ „	$+++_{7}$	.	24. 4. 23	55	B. 36	—	20.11. 0,02 Neosalvarsan	18. 12. 23	Filtrat	$+_{12}$ Spir. ++
3	928	8.11 21	B. 36	.	$+++_{12}$	.	24. 4. 23	75	B. 36	—				
4	958	30.12.21	B. 36	.	$++_{8}$	.	24. 4. 23	68	B. 49	—				
5	988	28. 2. 22	B. 64	.	$+++_{8}$	.	24. 4. 23	60	B. 36	—				
6	552	8. 8. 22	B. 64	.	$+++_{7}$	.	30. 1. 23	26	B. 64	—				
7	553b	8. 8. 22	B. 64	.	$++_{12}$	.	30. 1. 23	26	B. 64	—				
8	380	30. 3. 22	B. 36	+ luet. Ser. III	—	.	24. 4. 23	55	B. 36	$++_{12}$				
9	376	30. 3. 22	B. 36	+ „ „ II	—	.	24. 4. 23	55	B. 36	$+_{13}$				
10	808	14. 6. 22	R.K. 36	+ B. B.	—	.	31. 8. 23	63	Filtrat	$+++_{6}$				
11	807	14. 6. 22	R.K. 36	+ B. B.	—	.	1. 9. 23	63	B. 64	$+++_{5}$				
12	819	6. 10. 22	B. 36	+ Normalliquor	$++_{8}$	+ 457_{26}	31. 8. 33	47	Filtrat	—				
13	670	22. 12. 22	R.K. 36	.	—	.	1. 9. 23	43	B. 36	$+_{8}$				
14	812	19. 9. 22	B. 36	+ Normalserum	$++_{10}$	.	31. 8. 23	50	Filtrat	—				
15	962	7. 1. 22	B. 36	+ Syphilisserum	$+++_{10}$	.	31. 8. 23	86	„	—	20.11. 0,02 Neosalvarsan	18. 12. 23	Filtrat	$++_{13}$ Spir. ++
16	994	13. 3. 22	B. 36	.	$++_{8}$	.	31. 8. 23	76	„	$++_{13}$				
17	846	28. 12. 22	Filtrat	+ 451	—	.	31. 8. 23	35	„	$+(+)_{14}$				
18	883	9. 4. 23	„	.	$+_{11}$	.	31. 8. 23	21	„	—				
19	884	9. 4. 23	„	.	$+++_{5}$	.	31. 8. 23	21	„	—	20.11. 0,02 Neosalvarsan	18. 12. 23	Filtrat	—
20	882	9. 4. 23	„	.	$+++_{7}$	.	31. 8. 23	21	„	—	20.11. 0,02 Neosalvarsan	18. 12. 23	Filtrat	—
21	671	12. 1. 22	B. 49	.	$+++_{8}$	+ 1105_{13}	31. 8. 23	85	„	—	20.11. 0,02 Neosalvarsan	18. 12. 23	Filtrat	?
22	444	27. 3. 22	B. 64	.	$++_{6}$	.	31. 8. 23	74	„	$+++_{9}$				
23	446	27. 3. 22	B. 64	.	$++_{6}$	.	31. 8. 23	74	„	$+^{?}_{10}$				
24	845	28. 12. 22	Filtrat	+ 450	—	.	31. 8. 23	35	„	$+++_{5}$				
25	607	10. 6. 22	B. 36	+ luet. Kan.-Ser.	$(+)_{12}$	.	1. 9. 23	64	B. 36	—				
26	809	19. 9. 22	B. 36	+ Luesserum	$++_{10}$	.	1. 9. 23	50	B. 36	—				
27	835	2. 11. 22	B. 36	+ 451	—	.	1. 9. 23	43	B. 36	$+++_{9}$				
28	672	12. 1. 23	B. 49	.	$++_{12}$	.	31. 8. 23	33	Filtrat	$+++_{8}$				
29	657	26. 7. 22	Filtrat	.	$+++_{6}$	+ $Blau_{6}$	31. 8. 23	57	„	—				
30	656	26. 7. 22	„	.	$+++_{8}$	+ $Blau_{6}$	31. 8. 23	57	„	—				
31	828	24. 10. 22	B. 64	.	$++_{7}$	+ 450_{10}	31. 8. 23	45	„	—				
32	484	24. 4. 23	B. 49	.	$+_{12}$	.	31. 8. 23	19	B. 64	—				

gleichen Stammes bei Anwesenheit der Spirochäten im Gehirn (70 Proz.) nach der Zerstörung der Immunität mittels Salvarsan die Infektion in 90 Proz. neu haftete. Ob es sich unter Umständen um Lokalimmunität bestimmter Organe handeln kann, sei hier unberücksichtigt gelassen, zumal die zu solchen Schlüssen verleitenden experimentellen Beobachtungen auch anders gedeutet werden können.

In ähnlicher Weise wie Brown und Pearce verfuhr Frei, der Tiere im Initialstadium mit Kalomel oder Sublimat behandelte und 9 Wochen nach der 1. Infektion (5 Wochen nach der Behandlung) bei völliger Symptomlosigkeit mit positivem Erfolg infizierte. Die Tiere waren, wie aus den Kontrollen ersichtlich, durch die Behandlung nicht geheilt, sondern befanden sich in einem latenten Stadium, woraus sich die Möglichkeit des Haftens einer 2. Infektion in Form des Typus einer Erstinfektion nach nicht sterilisierender Behandlung im Initialstadium ergibt.

Das im Versuch stehende syphilitische Tiermaterial des v. Wassermannschen Instituts mußte dazu anreizen, der Frage einer wiederholten Infektion Aufmerksamkeit zu widmen.

In der folgenden Uebersichtstabelle sind die wichtigsten Daten der hierfür reservierten Tiere vermerkt.

Die ersten 9 Tiere wurden bereits von Herrn Geheimrat Ficker wiederinfiziert, alle übrigen vom Verfasser in den 2. Infektionsversuch genommen.

Der Zweck der Erstimpfung war verschieden: Einfache Passageimpfungen oder Studien über das Wesen einfacher oder gemischter Infektionen oder Untersuchungen über besondere Immunitätsverhältnisse und anderes. Hieraus ergeben sich ohne weiteres verschiedene Voraussetzungen für die Wirkungen späterer Nachinfektionen. Diese wurden derartig gestaltet, daß verschiedenen Stämmen Gelegenheit gegeben wurde, sich wechselseitig zu beeinflussen. Sie waren gezeichnet mit B 49, B 64, B 36 und „Filtrat". Tierpathologisch waren sie dadurch gekennzeichnet, daß B 49 und B 64 biologisch weniger hochwertig sich verhielten als B 36 und Filtrat, die miteinander wahrscheinlich verwandt waren. Die Stämme B 49 und B 64 gingen unsicherer an, der Verlauf war gutartiger, kürzer und konnte leichter beeinflußt werden, Stamm B 36 und Filtrat hafteten bei geeigneter Erstimpfung zu 100 Proz., zeigten protrahierten Verlauf und größere Resistenz gegenüber chemotherapeutischen Maßnahmen.

Zwischen der 1. und 2. Infektion lagen in der Regel weit mehr als 13 Wochen — die Zwischenzeit variierte von 19—86 Wochen —, und es war somit die bei Kolle gesetzte Grenze von 90 Tagen reichlich überschritten, jenseits der die Wiederimpfung negativ verliefen.

Betrachten wir zunächst die ersten 9 Tiere auf ihr besonderes Verhalten: Man sieht, daß bis auf 2 Tiere (Nr. 8 und 9) die Erstinfektion nach 7—10 Wochen zu klinischen Erscheinungen führte. Die beiden negativen Tiere waren so geimpft worden, daß 0,3 Hodenemulsion mit 1,7 luetischen Menschenserum gemischt, $1^1/_2$ Std. bei 37° gehalten, den Tieren intraskrotal injiziert wurden. Die Tiere erkrankten nicht. Im Gegensatz zum Luesserum hatte menschliches Normalserum, in gleicher Weise verwendet, keinerlei Einfluß auf die Infektion. (Vergl. Tier 1 und 2.) (Von der Deutung der Ergebnisse sei hier abgesehen, da sie das Thema der Arbeit nicht berühren.) Ein unterschiedliches

Verhalten der Stämme B 49, B 64 und B 36 ist nicht bemerkbar. Die 2. Infektion erfolgte nach 26 bis 75 Wochen, und zwar, die Tiere 4 und 5 ausgenommen, mit den homologen Stämmen. Das Ergebnis war negativ bis auf Tiere 8 und 9, die beide bei der ersten Infektion durch gleichzeitige Applikation von Menschenluesserum offenbar geschützt worden waren. 2 gleichzeitig mit gleicher Hodenemulsion geimpfte Kontrollen zeigten nach 6 bzw. 7 Wochen positiven Befund. (In der Tabelle fortgelassen.)

Ueberblicken wir die Reihe, so ist das Ergebnis alsolut eindeutig. Die Wiederinfektion haftet unter vorliegenden Versuchsbedingungen bei positiver Erstinfektion nicht, dagegen dort, wo der 1. Infektionsversuch negativ ausgefallen ist!

Die Versuchsbedingungen der 2. Reihe (Nr. 10—32) wurden prinzipiell so angelegt, daß die Wechselwirkung verschiedener Stämme aufeinander zur Beobachtung gelangen konnte. Auch bei dieser Reihe war der erste Infektionsversuch unter den verschiedensten Bedingungen erfolgt, sodaß für den 2. Infektionsversuch ebenfalls differente Voraussetzungen bestanden.

Bei der Mehrzahl der Tiere fiel die erste Infektion positiv aus, ausgenommen die folgenden, die in Gruppe A und B zusammengefaßt sein sollen:

Gruppe A.

Nr. 10, 11 und 13. Die Erstinfektion sollte mit Reinkultur des Stammes B 36 erfolgen, der bei 10 und 11 „Begleitbakterien" beigefügt waren. Der Versuch ist offenbar nicht gelungen, die Tiere mußten also bei der zweiten Infektion nach 63, bezüglich 43 Wochen noch als normal betrachtet werden und der positive Infektionserfolg wird verständlich. Daß die Impfergebnisse mit heterologem Stamm kräftiger ausfielen, ist immerhin bemerkenswert, dürfte aber hier wohl kaum als prinzipiell wichtig gedeutet werden.

Gruppe B.

Nr. 17, 24 und 27. Die Tiere waren nach der Infektion prophylaktisch mit wirksamen chemischen Mitteln nachbehandelt. Es zeigt sich, daß es durch die prophylaktische Anwendung der Chemotherapeutica gelungen war, die Tiere vor der Erstinfektion zu bewahren. Sie boten also biologisch normale Organismen und mußten sich als solche auch gegenüber neuen Infektionen verhalten, die mit dem gleichen Stamm 35, bezgl. 43 Wochen nach der Erstinfektion vorgenommen, bei Tier 17 schwächer, bei Tier 24 und 27 stark positiv ausfielen.

Gruppe C.

Nr. 12, 21, 29, 30, 31. Diese Gruppe zeigt wohl positive Erstinfektion, doch wurde versucht, nach dieser auf die Spirochäten mit spirilloziden chemischen Substanzen einzuwirken. Tier 12 wurde 26 Wochen nach der Erstinfektion durch Stamm B 36, resp. 18 Wochen nach positivem Ergebnis dieser Infektion, mit einem chemisch spirilloziden Mittel behandelt. Der Erfolg zeigte sich darin, daß die Spirochäten nach 1 Tag schwanden und der klinische Befund nach 11—12 Tagen völlig normal wurde.

Die 2. Impfung erfolgte bei klinisch negativem Befund 47 Wochen nach der Erstinfektion mit Stamm Filtrat. Das Ergebnis war völlig negativ.

Tier 21 wurde 13 Wochen nach der Erstinfektion mit Stamm B 49, resp. 5 Wochen nach positivem Ergebnis dieser Infektion wiederholt mit einem schwach spirilloziden Mittel erfolglos behandelt. 85 Wochen nach der Erstinfektion erfolgte bei klinisch negativem Befund die zweite Infektion mit dem biologisch höherwertigen Stamm Filtrat ohne jede Wirkung.

Tiere 29 und 30 wurden 8 Wochen nach der Erstinfektion mit Stamm Filtrat, resp. $^1/_2$ bis 3 Wochen nach dem positiven Ergebnis der Erstinfektion mit einer schwachen spirilloziden Substanz wiederholt behandelt. Die mikroskopischen (Spirochäten) und klinischen Besserungen waren nur vorübergehend. 57 Wochen nach der Erstinfektion bei klinisch negativem Befund wurde versucht die Tiere zum 2. Mal zu infizieren. Das Ergebnis war völlig negativ.

Schließlich wurde Tier 31 11 Wochen nach der Erstinfektion durch Stamm B 64, resp. 6 Wochen nach dem positiven Ergebnis dieser Infektion mit einem relativ wirksamen spirochätenfeindlichen Mittel 2mal behandelt, und die Wirkung dadurch erkannt, daß innerhalb von 11 Tagen jede pathologische Erscheinung beseitigt wurde. 45 Wochen nach der Erstinfektion, resp. 40 Wochen nach dem positiven Infektionsergebnis, wurde die Infektion bei klinisch negativem Befund mit dem sehr wirksamen Stamm Filtrat wiederholt. Auch dieses Ergebnis verlief negativ.

Wir sehen also, daß die nachträgliche Behandlung mit spirilloziden Substanzen die Immunität nicht zerstörte.

Gruppe D.

Tier 15, 26, 25. Auch diese Gruppe zeigt positive Erstinfektion und es hat offenbar die gleichzeitige Behandlung mit Menschenluesserum (Tier 15 und 26) oder Kaninchenluesserum (Tier 25) keine verhindernde Wirkung gehabt. Auch bei diesen 3 Tieren fielen die 86, 50 und 64 Wochen nach der Erstinfektion vorgenommenen 2. Infektionen mit dem gleichen Stamm völlig negativ aus.

Gruppe E.

Unter der letzten Gruppe E wurden die Tiere zusammengefaßt, deren Erstinfektion in keinerlei Art zu beeinträchtigen versucht worden war und die lediglich Variationen der Infektionsstämme aufwiesen. Es sind hierher zu rechnen die Tiere 16, 18, 19, 20, 22, 23, 26, 28, Bei 14, 18, 19, 29, 26, 32, deren Wiederinfektion 49, 16, 16, 16, 49 und 14 Wochen nach der Erstinfektion lag, wurde ein positives Resultat der zweiten Impfung nicht beobachtet, und es entsprach also dieser Ausfall den üblichen Erwartungen.

Ein anderes Verhalten boten die Tiere 16, 22, 23 und 28, d. h. von 10 Tieren 4!

Tier 16 zeigte 8 Wochen nach der ersten Impfung mit Stamm B 36, wie die beiden hier nicht aufgeführten Paralleltiere, einen positiven Befund, der mit klinischen Schwankungen etwa 3 Monate bestehen blieb und wies bei der Reinfektion (76 Wochen nach der Primärinfektion mit Stamm Filtrat) bereits seit 56 Wochen einen völlig negativen klinischen Befund auf, sodaß man vielleicht berechtigt wäre, von einer „spontanen Ausheilung" zu sprechen. Die Wiederinfektion haftete nach 13 Wochen in kräftigster Form mit reichlichem Spirochätenbefund und machte so das Tier für therapeutische Versuche geeignet. Bei den Tieren 22 und 23 wurde 6 Wochen nach der Erstinfektion mit Stamm B 64 ein positiver Befund festgestellt, der 14 Wochen, langsam verklingend bestehen blieb. Bei der 74 Wochen nach der Primärinfektion vorgenommenen Wiederimpfung mit Stamm Filtrat reagierten die Tiere positiv.

Vielleicht kann man von einer „spontanen Ausheilung" in beiden Fällen sprechen, vielleicht dürfte auch die Verwendung des biologisch höherwertigen Stammes eine Erklärung für das prompte Haften der 2. Infektion geben, das übrigens bei Tier 23 wesentlich schwächer war, als bei Tier 22, welches einen so starken positiven Befund aufwies, der den Hoden zur Weiterverimpfung geeignet erscheinen ließ.

Tier 28 erkrankte 12 Wochen nach der Primärinfektion mit Stamm B 49. Der nicht stark positive Befund blieb ca. 13 Wochen bestehen und die etwa 4 Wochen nach dem Abklingen ausgeführte Wiederimpfung mit Stamm Filtrat zeigte 8 Wochen später die ersten klinischen positiven Erscheinungen. Bei diesem Tier könnte wohl allein die Erklärung gelten, die bei den zuletzt besprochnen Nr. 22 und 23 an zweiter Stelle gegeben wurde.

In Anlehnung an die Kolleschen Erfahrungen wurden weiterhin Versuche angestellt, die prüfen sollten, ob es gelingt, durch relativ kräftige spezifische Behandlung die in den Tieren entstandene „Immunität" zu zerstören, auch dann noch, wenn der von Kolle angegebene Termin um ein Vielfaches überschritten war. Es wurden hierzu die Tiere Nr. 2, 15, 19, 20 und 21 verwendet, die sämtlich ohne Erfolg wieder infiziert worden waren.

Tier 2 erhielt 30 Wochen nach der 2. negativ verlaufenen Infektion die doppelte Heildosis von Salvarsan intravenös injiziert, Tier 15, 19 und 21, die gleiche Dosis $11^1/_2$ Wochen nach der negativen Wiederinfektion. Genau 4 Wochen nach der intravenösen Salvarsaninjektion wurden alle 5 Tiere nochmals einer 3. Wieder-

infektion mit Stamm Filtrat unterzogen. Das Ergebnis war bei Tier 19 und 20 ein negatives, bei Tier 21 ein zweifelhaftes (erbsengroße Verhärtung, aber keine Spirochäten nachweisbar) Tier 2 und 15 zeigten verzögert (nach 13 Wochen) einen klinisch schwach positiven Befund, mit zahlreichen schwach (Tier 15) oder lebhaft (Tier 2) beweglichen Spirochäten. Es beweisen diese beiden Tiere, daß unter gewissen Umständen es doch gelingt, weit später als bisher angenommen wurde, die Tiere wieder für eine neue Infektion zugängig zu machen, die ohne die spezifische Behandlung ca. 15 Wochen (Tier 15) oder 33 Wochen (Tier 2) vorher nicht zur Auswirkung kam. Andererseits würde bei Tier 2 auch daran gedacht werden müssen, daß in der Zwischenzeit eine „spontane Ausheilung" eingetreten ist, die man in diesem Falle allerdings schon bei der 2. Infektion (56 Wochen nach der Erstinfektion) hätte annehmen können.

Die aus dem hier verarbeiteten Material zu ziehenden Schlüsse lassen sich kurz folgendermaßen formulieren:

1. Infektionen mit positivem Ergebnis schaffen in der Regel eine „Immunität" gegen spätere Infektionen, deren Zeitdauer jedoch begrenzt zu sein scheint. Hierbei handelt es sich möglicherweise nicht um eine echte Immunität, sondern um eine noch bestehende latente Infektion.

2. Gelingt es durch rechtzeitige Anwendung spezifischer Substanzen den Infektionsausbruch zu verhüten, dann können die Tiere als nicht infiziert gelten und sind daher für eine Neuinfektion empfänglich.

3. Eine ungenügende spezifische Behandlung, die evtl. ein rascheres Abklingen klinischer Symptome bewirken kann, macht deshalb das Tier noch nicht wieder für eine neue Infektion empfänglich.

4. Es besteht offenbar die Möglichkeit, daß Wiederinfektionen haften, wenn die Erstinfektion sehr weit zurückliegt, und wenn der zur 2. Infektion verwendete Stamm biologisch höherwertig ist, als der bei der Erstinfektion benutzte.

5. Es scheint unter Umständen zu gelingen, durch genügend wirksame Behandlung die erworbene Immunität zu zerstören, — selbst in solchen Fällen, in denen die Wiederimpfung weit jenseits der 13-Wochengrenze liegt.

Nachdruck verboten.

Ueber Infektion mit einigen menschlichen und tierischen Protozoen[1]).

Von Prof. **Mario Battaglia** (Universität Neapel).

Im Jahre 1908 hatte ich bei einer Reihe von Tieren geringer Größe (Fledermäusen, Ratten, Meerschweinchen, Kaninchen, jungen Hunden) und solchen von mittlerer Größe (Schäferhunden, Bracken, Molosserhunden) eine experimentelle Trypanosomiasis, (Tryp. Lewisii, Tryp. Brucei, Tryp. dromedarii, Tryp. Gambiense, Tryp. Vespertilionis-Battaglia) erzeugt und versuchte nun als

1) Ins Deutsche übersetzt von Dr. Carl Muth.

Behandlungsmittel das Atoxyl (arsensaures Anilin), das damals bei der Behandlung der Schlafkrankheit soviel von sich reden machte und von vielen Forschern und Klinikern gepriesen und empfohlen wurde. Bei meinen Versuchen konnte ich beobachten (die diesbezüglichen Schlüsse wurden in verschiedenen Arbeiten[1]) von mir veröffentlicht), daß bei der vierten oder fünften Injektion bei den an Trypanosomiasis leidenden Tieren (verschiedene Tiere und verschiedene Trypanosomen) der Blutparasit ganz und gar aus dem Kreislauf verschwindet, wieviel eingehende und beharrliche Beobachtungen ich auch zu den verschiedenen Tages- und Nachtstunden am Blut der Tiere anstellte, indem ich es auch aus dem Herzen und der Milz entnahm. In all diesen Blutpräparaten der mit Atoxyl behandelten trypanosomiasiskranken Tiere war es mir, frisch und nach Färbung, niemals möglich, die betreffenden Trypanosome zu beobachten, sondern man sah nur kleine, bewegliche, amöboide, intra- und extraglobuläre Körperchen mit Protoplasma und Chromatin. Die mit Atoxylinjektionen behandelten trypanosomiasiskranken Tiere von geringer Größe, die den oben beschriebenen Blutbefund aufwiesen, verendeten in derselben Zeitspanne wie die übrign trypanosomiasiskranken Tiere von derselben Größe mit dem gleichen Trypanosom, die keiner Heilbehandlung unterzogen worden waren. Bei den trypanosomiasiskranken Tieren mittlerer Größe verschwanden bei der vierten oder fünften Atoxylinjektion die Trypanosomen aus dem kreisenden Blut, in dem nur bewegliche, mit Protoplasma und Chromatin ausgestattete amöboide Körperchen beobachtet wurden. Blieben diese Tiere am Leben und wurden die Atoxylinjektionen ausgesetzt, so traten in einem Zeitraum von 14 Tagen die vollständigen Trypanosomenformen, ein jedes in der ihm gehörenden Form, wieder im kreisenden Blute auf, und die Tiere verendeten in derselben Zeit wie das mit dem betreffenden Trypanosoma infizierte nicht behandelte Tier und zwar unter den gleichen Symptomen.

Um mich gegen mögliche experimentell-technische Fehler zu sichern, wurde das Blut von der Atoxylbehandlung unterzogenen trypanosomiasiskranken Tieren zur Zeit, als in ihrem Blut die Trypanosomenformen vollkommen verschwunden waren und nur die oben beschriebenen amöboiden Körperchen zirkulierten, nach Berkefeld filtriert und das Filtrat anderen Tieren derselben oder einer anderen Art eingeimpft. Es entstand die betreffende Trypanosominfektion mit der vollständigen Trypanosomform im kreisenden Blute. Diese wiederholten Versuche gaben mir im Verein mit dem, was ich mikroskopisch nachweisen konnte, die Gewißheit, daß die Trypanosomen ihre Entwicklung auch aus einer amöboiden Sporenphase beginnen, und daß das Atoxyl die Trypanosomeninfektion nicht heilte, sondern nur ein lytisches Vermögen auf das vollständig entwickelte Protozoon hatte, während es die Sporen und die amöboiden Formen intakt ließ und somit zum Mißerfolg bestimmt war.

Bei Malaria und Lues habe ich durch klinische Versuche zuerst 1891 und in den nachfolgenden Jahren bis zur Gegenwart konstatieren können, daß Chinn-, Quecksilber-, Arsenbenzol- und Wismutpräparate die vollständigen Formen der betreffenden Protozoen zum Verschwinden bringen, die Malaria- und Luesinfektion aber nicht gänzlich bewältigen. Diese besteht vielmehr in dem menschlichen Organismus unter jenen besonderen Befundformen fort, die wir zwar sehen, aber noch nicht bestimmen können (1), so daß sowohl die eine wie die

andere Infektion häufig nach mehreren Jahren, in denen man sie für erloschen hielt, wieder ausbricht.

Diese bei der Malaria- und Luesinfektion festgestellten Tatsachen, die fortdauern, ohne daß der gewöhnliche Befund des betreffenden Blutparasiten erhalten würde, sondern wo in dem Blut nur nicht genau bekannte, amöboide Körperchen gesehen werden, können nunmehr durch die biologischen Versuche und die klinischen Vorstellungen dessen, was wir über die Trypanosomeninfektionen wissen, bestätigt und bekräftigt werden. So kann auch die viele Jahre nach meinen Schlußfolgerungen über die Trypanosomen-, Malaria- und Luesinfektion aufgestellte Hypothese Rouths (2) eine wirkliche biologische und klinische Bedeutung erhalten. Er sagt in der Tat, daß bei den sog. parasyphilitischen Nervenläsionen der Syphilitiker und bei antenataler Syphilis nach dem sog. Collesschen Gesetz und dem Ausbleiben der Wassermannschen Reaktion bei Aborten syphilitischer Frauen, Dementia paralytica und Tabes eine morphologische Verschiedenheit zwischen diesen Spirochäten [eigentlich ist es keine Spirochäte, sondern ein Treponema (1)] und der der primären Syphilis besteht, und nach ihm wäre das Stadium der Spirochäte (bzw. des Treponema) nicht das einzige in dem Leben dieses Protozoon, das nämlich mit echten Sporen anfangen soll. Viele andere Forscher haben Körner als Zerfallsprodukte der Spiralen beschrieben, die unter bestimmten Umständen das Protozoon in seiner reifen Form reproduzieren können, so daß diese Körner einen latenten oder biologisch inaktiven Zustand darstellten, genau so wie die von mir bei den verschiedenen Trypanosomenerkrankungen beschriebenen Körner.

Literatur.

1) Mario Battaglia, Ann. di Med. nav. Ann. 10. Vol. 2. 1904. Fasc. 5. — Ricerche fatte nel Labor. Anat. normal. R. Un. di Roma. Vol. 12. 1906. Fasc. 1. — Ann. di Med. nav. Ann. 13. Vol. 1. 1907. Fasc. 5. — Giorn. Intern. di Scinze med. Ann. 29. 1907;. Ann. di Med. nav. e colon. Ann. 14. Vol. 2. 1908. Fasc. 1. — Ibid., Ann. 14. Vol. 2. 1908. Fasc. 6. — Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 46. 1908. H. 4. — Bollet. Soc. Ital. di Med. ed Ig: colon Ann. I. Vol. 2. 1908. Nr. 3. — Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 49. 1909. H. 3. — Ann. di Med. nav. e colon. Ann. 15. Vol. 2. 1909. Fasc. 3. — Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 71. 1913. H. 2/3. — Ibid. Bd. 67. 1912. H. 3. — Policlinico, Sez. prat. Ann. 1920. — Riforma med. Ann. 39. 1923. Nr. 32. — 2) Routh, Lancet, 12. Jan. 1918.

Ueber das häufige Vorkommen des Trichocephalus trichiurus in Rumänien.

[Aus dem Parasitologischen Laboratorium der Medizinischen Fakultät zu Jassy.]

Von Dr. **Virgil Nitzulescu,**

Assistenten am Parasitol. Laboratorium der med. Fakultät zu Jassy (Direktor: Prof. Dr. N. Leon).

Der Trichocephalus trichiurus (Peitschenwurm) ist ein Schmarotzer, der sich mit Vorliebe das Cöcum als Aufenthaltsort wählt. Die sicherste und bequemste Methode für die Nachforschung

und Bestimmung seiner Häufigkeit besteht in systematischer und aufmerksamer Beobachtung bei Obduktionen. Diesen Weg verfolgten wir bei unseren Forschungen, und zwar beschränkten wir uns bloß auf die Untersuchung des Cöcum und seines Wurmfortsatzes. Dieser Darmteil, der durch 2 Unterbindungen abgesondert war, wurde uns regelmäßig in das Parasitologische Laboratorium geschickt, um seinen Inhalt genau und aufmerksam untersuchen zu können. Bisher haben wir 30 Fälle untersucht.

Die Individuen waren an verschiedenen chronischen Affektionen, wie Tuberkulose, Carcinoma, Nephritis, Herzfehler, oder auch akuten, wie Pneumonien, gestorben. Bei keinem wurden zur Lebenszeit irgendwelche Störungen durch die Parasiten beobachtet. Von diesen 30 Fällen kamen 11 auf Personen weiblichen, 19 männlichen Geschlechtes.

In 26 dieser Fälle, d. h. 86,6 Proz., fanden wir den Trichocephalus. Auf die Geschlechter verteilten sie sich folgendermaßen: Von 11 Frauen waren 10, d. h. 90 Proz., von 19 Männern 16, d. h. 84,1 Proz. mit Peitschenwürmern behaftet. Betont sei noch, daß es sich dabei um Individuen von 24—60 Jahren handelte, ein Grund mehr, um die gefundene Prozentzahl für unverhältnismäßig hoch zu halten.

Die Peitschenwürmer kamen stets in sehr geringer Zahl vor, zwischen 2 und 7 Stück, durchschnittlich 3—4. In 4 Fällen fanden wir die Würmer noch an der Schleimhaut fest anhaftend. Der fadenförmige Teil des Wurmes war in der oberen Schicht der Schleimhaut eingegraben, während das bukkale Ende frei ins Darmlumen ragte, so daß der Wurm aussah wie ein durchgezogener Faden, dessen beide Enden aus der Schleimhaut herausragten.

In den anderen 22 Fällen fanden wir die Trichoephalen frei und mit den das Cöcum füllenden Fäkalien vermengt, so daß wir gezwungen waren, die Fäzes mit Wasser zu verdünnen und nachher durch ein lockeres Sieb passieren zu lassen, um sie aufzufinden. Im allgemeinen fanden sich Weibchen wie auch Männchen in demselben Cöcum fast in gleicher Zahl vor. Bei ungleichen Verhältnissen waren stets die Weibchen in der Mehrzahl.

J. v. Gottberg (1) äußert sich in seiner Abhandlung über die Zunahme der Häufigkeit von Darmparasiten bei Kindern während des Krieges dahin, daß die „Oxyuren und noch mehr die Trichocephalen bei der Sektion sehr leicht übersehen werden könnten wegen ihrer geringen Größe und letztere besonders wegen ihrer schmutzigen Farbe". Diese Furcht ist meiner Meinung nach unbegründet, denn es ist nur Aufmerksamkeit erforderlich, um sicher zu sein, daß man mit halbwegs geübtem Auge den Trichocephalus (trotz seiner schmutzigen Farbe) nicht übersieht.

Die meisten mitgeteilten Prozentzahlen in der parasitologischen Literatur über die Häufigkeit des Trichocephalus wurden durch mikroskopische Fäzes-Untersuchungen erhalten, die oft nicht vollkommen sind, insbesondere wenn von einer so geringen Schmarotzerzahl, wie in unseren Fällen, die Rede ist.

E. Brumpt (2) hat in seinem „Précis de parasitologie" über den Prozentsatz der Trichocephalen folgende Tafel herausgegeben, die wir, zum Vergleiche mit den in unserem Lande vorkommenden Zahlen, wiedergeben:

Oeufs trouves a l'examen des selles		
Pays	Pour 100	Auteurs
Amazonie (Brésil)	82,3	Da Matta
Alger (Enfants)	25	Soulié et Derrieu
Angleterre (Mineurs)	près de 100	Boycott
Bornéo	84	Christe et Ledingham
Corée	93,7	Kojima et Kô
Côte de l'or	32	Ingram
États-Unis (Georgie)	24	Willets
France (Soldats)	80	De Vezeaux de Lavergne
France (Mines du Nord)	82,5	Verdun
France (Mines de Loraine)	72,21	Thiry
France (Hôpitaux, Paris)	70	Chantemesse et Rodriguez
Guinée (Haute)	35	N. Clapier
Honduras	49	N. Barlow
Java	79	S.-L. Bruy
Lovehoo (Japon)	65	Hoki
Philippines	59	Garrisson
Siam du Nord	28,13	W. Kerr
Victoria Nyanza	34,15	N.-P. Jewell

In dem oben erwähnten Beitrag Gottbergs (1) finden wir für Deutschland mehrere auf die Helminthiasis während des Krieges bezügliche Zahlenangaben. Die Trichocephaliasis überschreitet 66 Proz. nicht, und zwar selbst bei Soldaten nicht, die 25—36 Monate im Felde waren. Im allgemeinen aber schwankt die durchschnittliche Prozentzahl zwischen 30 und 40.

Für Skandinavien beziehen wir uns auf Knud Schröders und Karl Jorgenses Beitrag (3), welche 67 Proz. und 55 Proz. Schmarotzerträger vorfanden, je nach dem Alter der Individuen über oder unter 30 Jahren.

Für den äußersten Osten entnehmen wir einige Zahlen aus Walter Fischers Abhandlung (4). Nach ihm fanden Mathis und Leger für Tonkin 58 Proz. bei Europäern und 78 Proz. bei Eingeborenen. Lindsay-Woods fand in China bei Männern 69 Proz., bei Frauen 83 Proz. In Japan soll der Durchschnitt 27 Proz., in gewissen Gebieten aber zwischen 8 und 83 Proz. betragen.

Alle oben angegebenen Prozentzahlen, aus verschiedenen parasitologischen Angaben entnommen, müßten wir, um zu einem richtigeren Resultate zu kommen, um ein geringes erhöhen, da sie durch die mangelhaften mikroskopischen Fäzes-Untersuchungen, bei denen bestimmt eine Anzahl von Schmarotzerwirten entschlüpft sind, erhalten wurden.

Im Vergleiche mit den von uns vorgefundenen Zahlen, auch nach der oben angegebenen Erhöhung, bleiben wir der Ueberzeugung, daß Rumänien, oder wenigstens das Gebiet um Jassy herum, eines der am häufigsten vom Trichocephalus heimgesuchten Länder ist.

Unsere Befunde stimmen sonst vollkommen mit den von Prof. Babes (5) gefundenen überein, welcher in seinen Vorlesungen über die allgemeine pathologische Anatomie an der medizinischen Fakultät zu Bukarest behauptet, daß er in der Mehrzahl der Leichen den Trichocephalus vorgefunden hat.

Da die rumänische Parasitologie bisher im Auslande noch sehr wenig bekannt ist, finden sich zuweilen in den klassischen Lehrbüchern Irrtümer bezüglich der Prozentzahl der Schmarotzer in unserem Lande.

So schreibt Otto Seifert (6) in seinem berühmten Werke „Die tierischen Parasiten des Menschen", T. II, wo er sich mit der Häufigkeit der Trichocephalen beschäftigt, unter anderem: „Bisher galt die Meinung, daß in Rümänien Trichocephalus dispar nicht existiere, aber Borcea wies bei der Sektion einer alten Frau im Cöcum mehrere Exemplare dieses Darmparasiten nach." Daraus erhält man den Eindruck, daß die Trichocephaliasis in Rumänien eine Seltenheit sei, da sich nach Seifert kaum 1 Fall vorfand, der beweisen könnte, daß die „alte Meinung über die Nichtexistenz der Trichocephalen" unbegründet sei.

Wie aus unseren Forschungen zu ersehen ist, ist im Gegenteil die Trichocephaliasis bei uns viel häufiger, als fast sonst in Europa. Als Seifert die oben erwähnte Angabe machte, war er freilch schlecht unterrichtet, denn, soweit uns bekannt, glaubte man in Rumänien niemals, daß der Trichocephalus dort nicht existiere. Der Trichocephalus ist in unserem Lande bisher nur nicht gesucht worden, da ihm keine Bedeutung beigemessen wurde, und deswegen findet er sich in den alten Listen über die Parasiten in Rumänien nicht angegeben. Uebrigens wurde er in Rumänien schon von Prof. Leon (7) beobachtet, und zwar lange, bevor Prof. Borcea auf ihn hingewiesen hat; er wurde auch von vielen anderen gesehen [Prof. Reiner usw. (8)].

Prof. Borcea hat das Cöcum mit den Trichocephalen nicht in der Absicht, eine Rarität zu zeigen, vorgezeigt, sondern um die Diskussion über die pathogene Rolle dieses Parasiten zu wecken und zu Statistiken über ihn in unserem Lande anzuregen. Er schreibt (9):

„Dans les listes d'animaux parasites de Roumanie, ce parasite n'est pas cité. Il doit être certainement assez commun et il ne serait pas sans interêt d'en dresser des statistiques ..... afin de regler certaines litiges rélatifs au rôle de ce parasite dans certaines affections telles que: fièvre typhoide, choléra, appendicite, dysentérie etc. . . ."

Was die pathogene Rolle dieses Parasiten anbetrifft, so kennen wir in Rumänien bisher nur sehr wenige Fälle, in welchen größere Mengen von Peitschenwürmern ernsten Schaden angerichtet haben.

Ureche, Tupa u. Mateescu (10) und später Ureche (11) haben 3 letale Fälle von Trichocephalus-Enteritis mit Anämie veröffentlicht, die alle aus der Irrenanstalt von Bukarest stammten. Nach der Obduktion wurde das Cöcum eines dieser Fälle an das Parasitologische Laboratorium zu Jassy gesendet, und in Prof. Leons „Note sur quelques vers parasites de Roumanie" (12) abgebildet. Daraus ist zu ersehen, daß die Trichocephalen in einer so großen Menge vorhanden waren, daß sie, auf der Schleimhaut des Cöcums angehaftet, ihr den Anschein einer Bürste gaben.

Vor kurzem hat Poenaru-Caplescu (13) einen äußerst interessanten Fall über die Trichocephalenanämie veröffentlicht, in welchem die Anämie, nachdem sie durch Santoninbehandlung zurückging, nach kurzer Zeit sich wiederum einstellte, nach einer neuerlichen Behandlung aber wieder zurückging, gerade so, als wenn es sich um eine Laboratoriumdemonstration handelte.

Literaturverzeichnis.

1) J. v. Gottberg, Arch. f. Kinderheilk. 1921. H. 3/4. — 2) Brumpt, Précis de parasitologie. Paris 1922. — 3) Knud Schröder u. Karl Jor-

genssen, Hospitalstid. 1—8 Oct. 1913; ref. in Sem. méd. Avril 1. 1914. — 4) Walter Fischer, Arch. f. Schiffs- u. Tropenhyg. Bd. 18. 1914. — 5) V. Babes, Anatomie patologica generala. Bucaresti 1921. — 6) Otto Seifert, Die tierischen Parasiten des Menschen. T. 2. 1920. — 7) N. Leon, Arch. de parasitol. 1900. — 8) Poenaru Caplescu, Spitalul. 1907. No. 21. — 9) J. Borcea Bull. et mém. soc. méd. et nat. de Jassy. 1912. — 10) Ureche Tupa si Mateescu, Spitalul. 1913. No. 3. — 11) Ureche, ebenda. 1913. No. 19. — 12) N. Leon, Ann. sc. d. l'univ. d. Jassy 1920. — 13) Poenaru Caplescu, Spitalul. 1923. No. 12.

Nachdruck verboten.

Zur Frage der Agglutination von Pseudoruhrbazillen durch Schwangerensera[1]).

[Aus der bakteriologischen Untersuchungsabteilung (Leiter: Prof. Dr. Carl Prausnitz) des Hygienischen Instituts der Universität Breslau (Direktor: Geh.-Rat Prof. Dr. Pfeiffer).]

Von Dr. **Werner Koose,**
Volontärassistent am Institut.

Mit 7 Kurven im Text.

A. Theoretischer Teil.

1. Unterschiede im Antikörpergehalt von mütterlichem und kindlichem Serum.

Die natürliche Immunisierung ist eine aktive; sie entsteht durch die Gegenwirkung des Organismus gegen die Keime, die in ihn eindringen. So ist es verständlich, daß der Gehalt an normalen und Immunantikörpern mit der Dauer des extrauterinen Lebens und der zunehmenden Zahl der Invasionen von weniger oder mehr pathogenen Keimen wächst. Doch erklärt sich das Anfangskapital des Neugeborenen an diesen Schutzkörpern nur durch Uebertragung von der Mutter, also durch eine natürliche passive Immunisierung. Nach den klassischen Untersuchungen Ehrlichs für die Abrin- und Rizinimmunität bei Mäusen und Ehrlichs und Hübeners bei tetanusimmunisierten Meerschweinchen und Mäusen überträgt die Mutter Immunkörper sowohl durch den Kreislauf auf den Fötus, als auch später durch die Milch an das säugende Neugeborene.

Die Quellen dieser passiven Immunisierung sickern aber selbst aus großem mütterlichen Vorrat an Antikörpern verhältnismäßig spärlich zum Neugeborenen hinüber, so daß dessen Besitz an diesen Stoffen fast stets weit geringer ist.

So wurden in fötalen Seren verschiedener Tiere wesentlich geringere Mengen an normalen Bakterienagglutininen als bei den ausgewachsenen festgestellt (G. Müller). Für den Menschen gilt allgemein das gleiche: Der Gehalt an normalen Hämolysinen gegen Kaninchenblut, an bakteriziden Stoffen, z. B. gegen

1) Ausführlicher als Dissertation Breslau 1923 erschienen.

Choleravibrionen, an Antikörpern gegen die Wirkung von Rizin, Abrin, Staphylolysin, an Agglutininen für Staphylokokken und Coli-Bazillen ist im Nabelblut wesentlich geringer als im mütterlichen Venen- oder Retroplazentarblut (Landsteiner und Halban, Resinelli, Polano, v. Fellenberg und Döll). Offenbar entwickeln sich auch die normalen Antikörper zum Teil erst im Verlauf des extrauterinen Lebens. So nimmt auch Weszeczky an, daß diejenigen Hämisoagglutinine, die im Serum eines Neugeborenen, nach den Vererbungsregeln von den Eltern überkommen, auftreten müßten, sich tatsächlich erst etwa vom 1. Lebensjahr ab einfänden.

Diese Arbeiten kamen durch den Vergleich mit dem Titer der Mütter zu der Annahme, daß Neugeborene nur wenig Antikörper besäßen; schlüssig wäre sie nur, wenn man die Neugeborenensera mit denen normaler Erwachsener vergliche; die mächtigen Stoffwechseländerungen der Schwangerschaft könnten ja z. B. zu einer Vermehrung der Antikörper gegenüber der Norm der Erwachsenen führen. Doch fanden auch Kruse, Rittershaus, Kemp und Metz bei umfassenden Untersuchungen über die Agglutination von Ruhrbazillen durch Normalseren, daß Neugeborenensera nur ausnahmsweise wirksam sind. So müssen wir die Armut des Neugeborenen an Antikörpern auch im Vergleich gegen nicht gravide Erwachsene annehmen.

Haben nun Kreißende im großen Durchschnitt ebensoviel Antikörper wie andere Erwachsene, oder vermehren sich diese Stoffe etwa in der Schwangerschaft?

Manche Beobachtungen sprechen für die 2. Annahme, so z. B. der Befund Pfeilers, der bei einer lange vorher gegen Rotz immunisierten Stute, deren Serum bereits negativ reagiert hatte, mit Eintreten des Rossigseins bzw. der Trächtigkeit Wiederauftreten der Komplementablenkung gegen Rotz feststellte. So fand auch Stäubli starkes Schwanken, meist Steigen des Titers bei typhusimmunisierten Meerschweinchen kurz vor oder nach dem Wurf.

2. Die sogenannte „physiologische Agglutination" der Ruhrbazillen durch Gravidensera.

Von besonderem Interesse ist in diesem Zusammenhang die zuerst von Löwenthal veröffentlichte Beobachtung, daß Ruhrbazillen durch Wöchnerinnen- und Schwangerenseren oft noch in viel höherer Verdünnung als durch Normalsera Erwachsener agglutiniert würden.

Da diese Angabe den Ausgangspunkt für die vorliegende Arbeit darstellte, gehe ich näher darauf ein.

Nach Löwenthal war bei 16 Ammen die Agglutination von je 2 Y-Ruhrstämmen in 5 Fällen = 31 Proz. positiv[1]), während bei 417 anderen Blutproben aus Berlin und Umgebung, die zur Wassermannschen Reaktion, zum Typhus-Widal und anderen Zwecken eingesandt waren, nur 13,6 Proz. positive Resultate gefunden wurden. Daß dabei auch bei 60 Dirnen einer Geschlechtskrankenstation in 24 Proz. positive Ergebnisse vorlagen, wird später erörtert. In weiteren Untersuchungen hatten Löwenthal und Bertkau bei 104 Seren von Ammen und Wöchnerinnen in 26,9 Proz., bei 241 zum normalen Termin Kreißenden in 38,58 Proz. positive Agglutination. Ein Teil der bei der Geburt nicht deutlich positiven Fälle wurde noch 3—9 Tage später positiv. Bei allerdings kleinen Zahlen der einzelnen Reihen schien diese verstärkte „physiologische" (Löwenthal) Y-Ruhragglutination in der Regel etwa in der zweiten Hälfte der Schwangerschaft aufzutreten, in den ersten 2 Monaten der Laktation ihr Maximum zu erreichen, um dann nach ungefähr 6 Monaten zu verschwinden. Shiga-Kruse- und Paratyphus B-Bazillen wurden von Gravidenseren kaum, Typhuserreger vielleicht etwas stärker als von Normalseren beeinflußt.

1) Als positiv galt Agglutination, die nach 2 Std. Brutschrankaufenthalt bei Lupenablesung in Verdünnung 1:100 vollständig war.

Bei 73 weiteren Seren von Königsberger Kreißenden, wobei meist der retroplazentare Bluterguß verwandt wurde, ergab sich in 32,9 Proz. positive Flockung von Y-Ruhrbazillen.

Diese Befunde wurden von Josef Vorschütz für Kiel, von Hausherr für das ruhrarme Bern bestätigt: Vorschütz fand bei 39 Seren von Graviden bzw. Kreißenden in 48,2 Proz. Agglutination von Cholera, Coli-, Flexner- und Y-Ruhrbazillen. Bei Kontrollen (5 Männer, 3 nicht gravide Frauen, 2 Neugeborene) fehlte die Agglutination überall, höchstens erschien sie bis zu Verdünnungen von 1:30. Doch sind die Zahlen der Vergleichsuntersuchungen viel zu gering, um beweiskräftig zu sein: Denn Kruse, Rittershaus, Kemp und Metz haben gezeigt, wie sehr die Menge dieser Agglutinine bei den einzelnen gesunden Individuen, dabei in großen unregelmäßigen Gruppen schwankt.

Hausherr hatte mit 3 Y-Ruhrstämmen bei 100 Retroplazentarseren (Ablesung nach 24 Std.) sogar in 53—90 Proz., bei einem Flexner-Stamm in Verdünnung 1:100 und darüber in 22 Proz., bei einem Shiga-Kruse-Stamm in Verdünnung von mindestens 1:50 in 22 Proz. positive Ergebnisse. Der Typhus-Widal war in 5 Proz. positiv. Versuche mit Choleravibrionen ergaben infolge Neigung des benutzten Stammes zur Spontanagglutination keine eindeutigen Resultate.

3. Erklärungsversuche der Ruhragglutination durch Gravidensera.

Für diese überraschenden Ergebnisse sind eine Reihe von Erklärungen zumeist von Löwenthal (3) versucht und geprüft worden. Es erschien zunächst fraglich, inwieweit die Gravidenserenagglutination der Immunserumagglutination entspräche; man mußte daran denken, daß sie keine echte Immunagglutination wäre, sondern durch andere chemische Beziehungen bedingt würde. Besprochen seien der Einfluß der Vermehrung des Cholesterins und der evtl. Verminderung der Phosphatide (a), Beziehungen zur Kottmannschen Reaktion (b), Einflüsse einer etwaigen Veränderung der Wasserstoffionenkonzentration (c), Beziehungen zur Erythrozytensenkung und zur Globulinmenge des Serums (d).

a) Der Lipoid-Phosphatidgehalt.

Löwenthal (3) fand die „physiologische Agglutination" nicht erklärt durch etwaige, sogar neuerdings bezweifelte Verminderung der agglutinationshemmenden Calciumionen oder des Kieselsäuregehaltes und unabhängig von Substanzen, die durch Fettlösungsmittel auszuziehen sind, nicht einwandfrei beeinflußbar durch Zusatz von Cholesterin zum agglutinierenden Serum.

Von vornherein lag es nahe, dem Cholesterin eine ursächliche Rolle zuzuweisen, da es nach Neumann und Edm. Herrmann im Neugeborenenserum nur in kleinsten Mengen, in der zweiten Hälfte der Schwangerschaft dagegen vermehrt vorkommt, nach Schlimpert allerdings bald nach der Geburt wieder auf normale Werte fällt.

Im Liter Schwangerenserum fand Huffmann 2,3 g Cholesterin, gegenüber Werten des Normalserums von 1,5—1,8 (Chauffard, Laroche et Grigaut) oder 1,7—1,9 (Widal, Weill et Laudat). Die wohl zum Teil auf seinem Cholesteringehalt beruhende Hemmung der Saponinhämolyse durch Serum ist im Schwangerenserum meistens viel ausgesprochener (Neilson and Wheelon,

O. Ehrentheil und W. Weiß-Ostborn). Stuber glaubte, die Lipoidnatur des Typhusagglutinins durch seine Löslichkeit in Aether nachgewiesen zu haben.

Jedenfalls waren bei Löwenthal, der auf eine Kritik der Stuberschen Ergebnisse durch Borčić hinweist, Y-Ruhr-, Typhus- und Choleraimmunagglutinine durch Extraktion nach dem Soxhlet-Prinzip weder in Aether noch in Chloroform, Ligroin, Toluol oder Petroläther löslich.

Die Schwierigkeiten, die Lipoide von den Eiweißstoffen restlos zu trennen, haben ja oft zu widersprechenden Resultaten geführt.

Die Frage nach der etwaigen Aetherlöslichkeit des Schwangerenagglutinins prüfte Hausherr so, daß er den Aether mehrere Stunden lang in Petri-Schalen auf das zu extrahierende Serum einwirken ließ. Sein Ergebnis war negativ.

Beweiskräftig wäre es jedoch nur gewesen, wenn er die Extraktion im tropfenden Aetherdampf, womöglich am getrockneten, feinst gepulverten Serum vorgenommen hätte.

b) Kottmannsche Reaktion.

Man hätte daran denken können, die verstärkte Agglutination mit der Kottmannschen Reaktion zu erklären: Schwangerenserum vermag nach Kottmann Eisen, wie es sich in maskierter Form in Eiseneiweißverbindungen befindet, abzuspalten und wieder in den ionisierten Zustand zu überführen; Löwenthal (3) konnte jedoch eine solche Erklärung ablehnen: Eisenchlorid in niedrigen, nicht an sich agglutinierenden Konzentrationen setzt bei Immunseren den Agglutinationstiter etwas herab (Absorption des Agglutinins mit dem Chlorid bzw. von dem hydrolytisch gebildeten Eisenoxydhydrat?)

c) Einfluß der Wasserstoffionenkonzentration des Serums.

Weiterhin war an den Einfluß von Aenderungen der Alkalität des Serums zu denken, da viele kolloidale Vorgänge — auf denen auch die Agglutination beruht — von kleinen Aenderungen der aktuellen Reaktion wesentlich beeinflußt werden.

Indessen sind die bisher veröffentlichten Ergebnisse leider recht widersprechend. L. Michaelis bestimmte die Wasserstoffionenkonzentration mit der Gasketten-methode und fand danach das Schwangerenserum alkalischer als das normale Serum; entgegengesetzte Ergebnisse hatten Hasselbalch, Hasselbalch und Gammeltoft, Farkas und Scipiades, Rolly, sowie mit anderer Methodik Bokelmann und Rother.

Im übrigen fand auch Löwenthal, daß die Verstärkung der Agglutination in alkalischer Lösung nicht, wie zu erwarten war, auf die Pseudoruhrbazillen beschränkt war, sondern auch bei Typhusbazillen auftrat. Hier hörte also jede Analogie zum Gravidenserum auf.

Es ist auch von vornherein schwer vorstellbar, daß die Azidität eines Immunserums für den Endtiter der Agglutination eine maßgebende Rolle spielt; denn der Endtiter ist eine im jeweiligen Versuche konstante Größe, die man in Parallelversuchen beliebig wieder darstellen kann. Diese manchmal hoch verdünnten Endtiterlösungen haben aber ein so geringes Pufferungsvermögen, daß ihre PH je nach Zufälligkeiten der Alkaliabgabe der Gläser, der Spannung von den für die Reaktion entscheidenden Gasen, in erster Linie der Kohlensäure und des Ammoniaks des Laboratoriums, stark schwanken müßte. Experimentell haben Michaelis und Davidsohn für die spezifische Agglutination eine weitgehende Unabhängigkeit von der PH bewiesen.

d) Beziehungen zur Erythrozytensenkung und zum Globulingehalt des Serums.

Löwenthal (3) zieht schließlich zur Erklärung der verstärkten Bakterienagglutination die Parallele zur verstärkten Blutkörperchensenkung der Graviden heran, eine Erwägung, die Jos. Vorschütz fortsetzt.

Höber und Kozawa hatten im Kataphoreseversuch die negative Ladung der Erythrozyten festgestellt; für die Größe dieser Ladung fanden sie in der Kon-

zentration von positiven, besonders dreiwertigen Ionen ($La^{\cdot\cdot\cdot}[NO_3]_3$), die gerade eine positive Umladung bewirken, ein weiteres Maß; Linzenmeyer hatte so die schwächer negative Ladung von Blutkörperchen bei Schwangeren z. B. im Vergleich zu der bei Männern ermittelt. Durch Adsorption mit elektronegativen Adsorbentien, z. B. Bolus, Talcum, Kaolin, aber auch mit der elektroneutralen Kohle, ließ sich die ladungsherabsetzende relativ elektropositive Substanz aus dem Gravidenplasma ausschütteln, die Senkungsbeschleunigung damit aufheben, während adsorbierende positive Kolloide, z. B. Metalloxyde und Hydroxyde, wirkungslos waren.

Eine solche ladungsherabsetzende Wirkung auf die negative Ladung von Bakterien schrieben Löwenthal und Jos. Vorschütz dem Gravidenserum zu. Linzenmeyer gibt jedoch an, daß die Senkungsbeschleunigung der Blutkörperchen fast nur dem Plasma eigentümlich, im Serum sehr viel schwächer wäre. So sahen auch Sachs und v. Oettingen nur im Plasma, nicht im Serum von Graviden eine gegen die Norm verringerte Oberflächenspannung.

Löwenthal (3) nahm an, daß jene elektropositive Substanz im Plasma bzw. Serum von Graviden die negative Ladung der Bakterien so weit herabsetze, daß sie dem damit kombinierten Angriffe der fast stets gegenwärtigen Ruhrnormalagglutinine auch in höheren Verdünnungen unterlägen. Dies ausbauend, konnte Vorschütz (1) die von ihm untersuchten Typhus-, Paratyphus A- und B-, Coli-, Cholera-, Flexner-, Y-Ruhr-, Shiga-Kruse- und Enteritis-Bazillen nach ihrer Flockbarkeit durch Gravidenseren in eine Reihe mit abnehmendem Titer (Coli, Flexner, Y, Shiga-Kruse, Typhus usw.) einordnen; eine gleiche Reihe zeigten sie nach der Geschwindigkeit, mit der sie in immer verdünnteren Lösungen von Lanthannitrat sedimentierten. Unter anderem wirkte das blutsenkungsbeschleunigende Histonsulfat oder hemmende Narkotika (Phenylharnstoff) auch entsprechend auf die Bakterienflockung. Um diese Parallele zu vervollständigen, gelang es Vorschütz (1) durch Adsorption mit negativen Pulvern (Kaolin), nicht aber mit positiven ($Fe[OH]_3$), den Agglutinationstiter zu verringern.

Gleichwohl wird man aus diesen Versuchen nicht schließen dürfen, daß die Körper, die die Blutsenkungsbeschleunigung hervorrufen, mit denen identisch sind, die die Bakterienagglutination verstärken. Höchstens dürfte man vermuten, daß sie elektrische Ladungen gleichen Sinnes tragen. Uebrigens leugnet Bleyer, daß der elektrische Ladungssinn von Kolloiden, durch die er Agglutinine adsorbieren ließ, für diesen Vorgang entscheidend wäre. Er legte auf Grund ausgedehnter Versuche über Adsorption von Agglutininen viel größeren Wert auf andere Momente, auf die Oberflächenentwicklung und die Art der Entstehung der adsorbierenden Kolloide und ihre Absorptionskraft für Eiweiß. Man wird also aus diesen Versuchen Bedenken schöpfen, nach dem Vorgang von Vorschütz aus den Ergebnissen von Adsorptionen in erster Linie auf unmittelbar elektrische Erscheinungen zu schließen.

Linzenmeyer läßt übrigens jetzt die Frage des ausschließlichen Waltens elektrischer Kräfte bei der Blutsenkung offen.

Auch spricht Bechhold von einem mehr amphoteren Charakter der roten Blutkörperchen, im Gegensatz zu den Bakterien. „Während letztere anodisch wandern, also negativ geladen sind, haben Blutkörperchen einen mehr amphoteren Charakter. Dementsprechend werden sie auch von negativen Hydrosolen, z. B. Kieselsäure oder As_2S_3 (Hirschfeld) ausgeflockt." Jedenfalls ist die elektrische Ladung von Bakterien wesentlich höher als die von roten Blutkörperchen.

Vor allem läßt die Tatsache, die auch Jos. Vorschütz (1) hervorhebt, daß ganz anders als bei der Blutsenkung bei der Bakterienflockung Serum und Plasma gleich wirksam sind, eine Parallele zwischen beiden Vorgängen nicht zur Gleichheit werden.

Wenn wir den Ausfall der Blutsenkung nunmehr für die Gravidenseren mit dem der Bakterienagglutination vergleichen, muß z. B. bei Betrachtung der graphischen Darstellung Linzenmeyers auffallen, daß die beschleunigte Blutsenkung fast ausnahmslos sämtliche Sera von Graviden der zweiten Hälfte und diese alle ziemlich gleichmäßig betrifft. Dagegen haben Löwenthal und Bertkau nur in etwa 40 Proz. positive Ruhrbazillenagglutination, Hausherr 53—57 Proz., wenn man einen seiner Y-Stämme ausschaltet, der Spontanagglutination gezeigt hat; aus eigenen Erfahrungen können wir hinzufügen, daß es eine beträchtliche Anzahl noch in Verdünnung 1:20 völlig unwirksamer Sera gibt.

Die Ergebnisse der Blutsenkung sind also viel gleichartiger als die der Bakterienagglutination. Dazu hört bei

Linzenmeyer die Beschleunigung der Blutsenkung bereits 3 Wochen nach der Geburt nahezu auf, während die Bakterienagglutination nach Löwenthal und Bertkau sich noch viele Monate in die Laktationsperiode erstrecken soll.

Für die Erklärung der verstärkten Blutsenkung in der Gravidität können wir die Vermehrung des Cholesterins[1]) und des labileren Anteils (Fibrinogens) der Eiweißkörper des Plasmas (Sachs und v. Oettingen) heranziehen. Die Cholesterinvermehrung ist für die Agglutination bedeutungslos. Kann man andererseits eine Vermehrung der labileren Quote auch im Serum, also eine Vergrößerung des Verhältnisses des Globulins zu Albumin, zur Erklärung erhöhter Bakterienagglutination verwenden, und kann man sie bei Graviden annehmen?

Johann und Josef Vorschütz (2, 3) fanden bei zahlreichen Krankheiten mit beschleunigter Blutsenkung auch stärkere Typhusbazillen- usw. Agglutination und parallel damit Vergrößerung des Globulin-Albuminquotienten. (Siehe auch Alder u. Schiff und Roser!) Sie nahmen also Identität der beiden Vorgänge an und sagten: die Agglutination ist abhängig von der Menge der Globuline, die auf Kosten der Albumine entstehen, und der negativen Ladung der Zellen (Bakterien). Einer Vergrößerung des Globulin-Albuminverhältnisses wird dabei die Rolle des Normalagglutinins zugeschrieben. Man wird hierbei an ältere Arbeiten von Bürgi und Mamlock erinnert: jede der von ihnen untersuchten Tierarten übte auf alle Bakterien ziemlich gleichmäßig entweder überall eine starke oder mittlere oder schwache Agglutination aus; so konnten sie eine Reihe der Tierarten nach dem größeren oder geringeren Besitz ihrer Sera an Normalagglutininen aufstellen. Diese Reihe stimmt in Anbetracht der starken Schwankungen bei den einzelnen Individuen jeder Art leidlich mit der Reihe des Globulin-Albuminverhältnisses (Tigerstedt, Langstein und Mayer) und mit der Reihe überein, in der die Sera die Salz-(Chinin-salz-)fällung von kolloidalen Kongorotlösungen mehr oder minder sensibilisieren (Brossa).

Man kann also zunächst annehmen, daß in globulinreichen Seren der Normalagglutinationstiter erhöht ist.

Daß das Schwangerenserum globulinreich ist, könnte man aus seiner leichteren Flockbarkeit erschließen. Diese ist tatsächlich in der sog. Klausnerschen Reaktion bekannt: beim einfachen Verdünnen mit salzfreiem Wasser entsteht eine Trübung im Gravidenserum, die beim Neugeborenen ausbleibt.

Zunächst könnten wir also eine Globulinvermehrung im Schwangerenserum zum Verständnis verstärkter Agglutination annehmen.

4. Bekannte Einwirkungen auf die Agglutination.

a) Kann Salvarsan eine unspezifische Ruhragglutination hervorrufen?

Ein auffallender Befund bei Löwenthal bedarf noch der Besprechung: Bei 60 Dirnen einer Geschlechtskrankenstation war die Y-Ruhragglutination in 14 Fällen = 23 Proz. positiv. Löwenthal vermutet, im Anschluß an Arbeiten von Agazzi, Friedberger und Masuda, daß hier das Salvarsan eine ursächliche Rolle spielen könnte. (Immerhin ist anzunehmen, daß von diesen Kranken Löwenthals ein guter Teil nicht syphilitisch war, also auch gar nicht mit Salvarsan behandelt wurde.) Die Angabe Kritschewskys, daß Salvarsan den Dispersionsgrad von Kolloiden verringert, zusammen mit den Ansichten Klingers und Herzfelds und Sachs' über den Einfluß des Dispersionsgrades für serologische Vorgänge und mit den

---

1) Nach Neumann und Edm. Herrmann scheint sich das Lezithin umgekehrt zu verhalten, in der Gravidität vermindert, beim Neugeborenen vermehrt zu sein; sein Einfluß auf die Blutsenkung ist bekanntlich dem Cholesterin antagonistisch.

Vorstellungen von Jos. Vorschütz über die Bedeutung des Globulins für die Agglutination, könnte hiermit in Verbindung gebracht werden.

Tatsächlich genügen aber dafür die Unterlagen, wie ich sie in der Literatur vorfinde, nicht zur Erklärung.

Agazzi spritzte Kaninchen intravenös zuerst Typhusbazillen, kurz danach verschiedene Arsenpräparate (As_2O_3, Arsenophenylglyzin, Atoxyl), zum Teil unter Zusatz von Thioglykolsäure ein und erhielt bei diesen Tieren höhere Agglutininwerte als bei den Kontrolltieren. Friedberger und Masuda erhielten bei gleicher Versuchsanordnung nach Immunisierung von Kaninchen mit einmaligen kleinen Injektionen von Typhusbazillen und Metschnikoff-Vibrionen durch bald folgende Salvarsaninjektion Steigerung des Agglutinationstiters um das Doppelte bis Vierfache.

Der Anwendung auf unseren Fall steht aber einiges entgegen. Der Japaner fand beim Immunisieren von Kaninchen gegen Typhusbazillen unter Atoxylbehandlung keine Erhöhung des Agglutinintiters gegenüber atoxylfreien Tieren. Reiter fand in der 3. Phase der Immunisierung mit Typhusbazillen oder Metschnikoff-Vibrionen, also nachdem der Titer konstant geworden war, keine wesentliche Beeinflussung der Agglutininproduktion durch Salvarsan, wenn dies auch in der 1. Phase der Immunisierung manchmal eine Beschleunigung des Titeranstiegs zu bewirken schien.

Um zu einer Parallele der tierexperimentellen Ergebnisse mit den Verhältnissen der Ruhragglutination beim salvarsanbehandelten Menschen zu kommen, könnte man nur den Einfluß des Mittels lange nach der Immunisierung, „in der dritten Phase", den Reiter verneinte, zum Vergleich benutzen, sofern es überhaupt statthaft ist, Schlüsse von der Typhus- zur Ruhragglutination zu ziehen.

Ueberdies berichtet Hage, daß bei 100 syphilitischen Frauen, von denen ich wohl annehmen kann, daß sie größtenteils zur Untersuchungszeit bereits unter Salvarsanbehandlung standen (jedenfalls mit ungefähr der gleichen Wahrscheinlichkeit wie bei dem Material von Löwenthal), nur je eine einen positiven Widal für Typhus in Verdünnung 1:50 und 1:100 hatte.

Man wird also bei dieser Gruppe mit verstärkter Agglutination weniger an Salvarsanwirkung als an eine Zufallsgruppierung denken.

b) Wirkung anderer unspezifischer Reize auf die Agglutination.

Für die Erklärung einer Steigerung des Y-Ruhragglutinintiters bei Schwangeren könnte man versucht sein, Parallelen zu anderen bekannten Einwirkungen auf die Agglutinationshöhe zu ziehen. Akute Reize, wie sie allerdings für die Verhältnisse der mehr allmählich einsetzenden allgemeinen Stoffwechseländerung der Gravidität nicht zutreffen, haben in der verschiedensten Gestalt eine erhebliche Bedeutung für die Höhe des Titers; meist tritt Steigerung der Bakterienflockung ein.

So erreichte Pfenniger bei Kaninchen, die mit Staphylokokken immunisiert wurden, durch intravenöse Injektion von Natriumbromid, Natriumpropionat, Cymol, Calciumchlorid wesentliche, durch Glaubersalz, Strontiumchlorid, Kresol geringe Steigerung der Bildung bzw. Ausschwemmung der Agglutinine in die Zirkulation. Bei Paul Theodor Müller und Dieudonné steigerte Hetol den Agglutinationstiter. Jaggi brachte latent gewordene Agglutinine durch parenterale Zufuhr von Deuteroalbumose und Natrium nucleinicum wieder zum Vorschein. Auch die Injektion von Lezithin wirkt nach Löwenthal (3) beim immunisierten Kaninchen gelegentlich agglutinationssteigernd. Am nicht vorbehandelten Tiere erreichte Collins mit Lezithininjektion Produktion von Bakterienagglutininen, wie er annimmt, durch unspezifische Steigerung normaler Antikörper. Durch diese Reizwirkung der Fette kann man auch entsprechend der Kritik von Borcić das Resultat von Stuber und Bauer erklären, die nach Injektion von Fettextrakten aus Bakterienkulturen beim Kaninchen, auch durch Injektion

von Aetherextrakten des Serums so behandelter Tiere bei anderen, unspezifische Agglutinine erhielten. Adrenalin und Hypophysin wirken steigernd auf den Agglutinintiter [Borchard, Löhr (1), Rosenthal und Holzer]. Die Bedeutung des Pilocarpins und der autonomen Nervensysteme für den Agglutininspiegel im Blut ist umstritten [Rosenthal und Holzer gegen Rostowski und Löhr (2)].

So gibt es der Einflüsse auf die meßbare Menge der Agglutinine noch zahlreiche andere. Ich erwähne nur noch, daß selbst Fesseln oder Injektion von hypertonischen Kochsalzlösungen (Stuber, Rosenthal und Klemperer) beim Kaninchen in diesem Sinne wirksam sind.

c) Wirkung unspezifischer chronischer Reize auf die Agglutination.

Wenn ich nun zur Bedeutung mehr chronischer Reize übergehe, so konnte v. Leube bei nicht mehr agglutinierenden Typhusgenesenen außer durch Biersche Stauung auch durch Zufuhr einer sehr reichlichen Nahrung nach vorausgehendem Hunger wieder positiven Widal zurückrufen. Weiter ist das Ergebnis von P. Th. Müller erwähnenswert, der unter dem Einfluß des Hungerns bei Tauben, die mit Typhus (und Pyocyaneus) immunisiert wurden, Steigerung, bei Tauben, die mit Shiga-Kruse-Dysenteriebazillen (desgleichen mit Vibrio Metschnikoff und Proteus) behandelt wurden, Hemmung der Agglutininproduktion beobachtete. Noch einladender zu Analogieschlüssen für unser Thema wäre der weitere Befund Müllers, daß bei der Pyocyaneus-Immunisierung von Tauben die Agglutininbildung deutlich stärker war bei einer Kost von Milch und Semmeln als bei Kartoffelfütterung. (Bei Proteus bestand kein Einfluß der Ernährung.)

Man brauchte also nur die Gravidität der Frau entgegen dem Hunger, z. B. der Tauben obiger Versuche, als einen Zustand besonderer Stoffwechselüppigkeit zu betrachten, und so auf Vermehrung der Dysenterieagglutinine in der Gravidität zu folgern. Eine reichlich scholastische Erklärung!

Wenn wir an die gesteigerte Tätigkeit der blutbildenden Organe in der Schwangerschaft denken, wie sie in der Vermehrung des Blutvolums und der Zunahme der absoluten Zahl der roten Blutkörperchen und der absoluten Menge des Serumeiweißes (Mahnert) zum Ausdruck kommt, so können wir auch durch eine Art von Mitbewegung oder Synergismus die gesteigerte Agglutininproduktion zu erklären versuchen. Als Bindeglied solcher Vorstellungen könnte die agglutinationssteigernde Wirkung besonders häufiger kleinerer, aber auch seltener größerer Blutentnahmen (Jötten, Trommsdorff, Hahn u. Langer, gegen Landau u. Rothberger) mit ihrer bedeutenden Rückwirkung auf die Blutbildung dienen.

Aus diesen Betrachtungen kann wenigstens die Möglichkeit hervorgehen, daß gleichlaufend mit irgendwelchen, vielleicht noch unbekannten Stoffwechseländerungen der Schwangerschaft auch eine Aenderung des Spiegels der Normal- bzw. Immunrestagglutinine erfolgen könnte.

Einerseits kann man nicht einmal den Mechanismus der experimentellen Beeinflussung der Agglutininproduktion oder Agglutininausschwemmung in ihrer verwirrenden Fülle von Einzeltatsachen treffend erklären, man muß sich begnügen, ihn mit dem allgemeinen Schlagwort der kolloidalen Gleichgewichtstörung zu kennzeichnen; andererseits muß im Falle der Gravidität, in dem wir überhaupt erst nach dem agglutininsteigernden Moment zu suchen haben, jeder Versuch einer Erklärung noch viel undankbarer erscheinen.

Bekannte Stoffwechseländerungen der Schwangerschaft sind sicher nicht geeignet, direkt den Agglutinationstiter zu erhöhen; trotzdem könnte man ihnen eine indirekte Bedeutung für den Titer zuschreiben, indem man an eine Wirkung auf die Zellen denkt, die Agglutinine hervorbringen oder enthalten, eine Wirkung, die man kaum experimentell rein reproduzieren und also nachprüfen kann. Dann bleiben außerdem immer noch hypothetische Zustandsänderungen, z. B. auf dem Gebiete der Kolloide oder Hormone, die an sich schon hinreichende Probleme von größerer Bedeutung stellen.

5. Rückblick.

Wenn ich auf die bisherigen Ausführungen zurückgreife, so ergibt sich aus den vielen, oft recht widerspruchsvollen Angaben das eine,

daß die sogenannte physiologische Ruhrbazillenagglutination der Gravidensera noch keine ausreichende Erklärung durch die bekannten „physiologischen" Abänderungen des Serums in der Schwangerschaft gefunden hat. Zu dieser unzureichenden ursächlichen Klärung der Frage kommt noch ein weiterer, viel bedeutsamerer Punkt: Kann man auf Grund der bisher vorliegenden Veröffentlichungen überhaupt von einer „physiologischen" Ruhragglutination durch Gravidensera sprechen?

Diese beiden Fragen, die einer erneuten Untersuchung zu bedürfen schienen, habe ich auf Anregung von Herrn Prof. Dr. Carl Prausnitz zu bearbeiten übernommen. Ich danke ihm für sein warmes Interesse und seine Hilfe bei der Ausführung der Arbeit. Ferner möchte ich nicht verfehlen, für ihre liebenswürdige Unterstützung bei der Beschaffung des Materials den Herren Prof. Dr. Fraenkel, Oberarzt Dr. Pfeiffer, Oberarzt Dr. Jeßner und Fräulein Margarete Stern, für Uebersendung von Testseren Herrn Professor Dr. Koenigsfeld meinen herzlichsten Dank auszusprechen.

B. Experimenteller Teil.

6. Technik der Gewinnung und Prüfung der Sera.

Zur Untersuchung kamen 44 Sera aus dem retroplazentaren Bluterguß von Geburten am normalen Termin, 6 Seren von Hochschwangeren (1 aus dem 7. Monat, 2 aus dem 8., 3 aus dem 9.) aus Venenblut, 44 zu den ersteren gehörige Nabelschnurseren, zur Gegenprobe je 50 durch $^1/_2$stünd. Erhitzen auf 56° C inaktivierte Sera mit negativer Wassermannscher Reaktion nichtluetischer Männer und Frauen, schließlich je 4 Sera von Männern und Frauen, die wegen Lues in Behandlung mit Wismutpräparaten (bzw. Quecksilber) und Neosalvarsan standen.

Zur Gewinnung des Serums wurde bei der üblichen Vorbereitung der Kreißenden die Placenta auf einer mit sterilem Tuch überdeckten Schüssel aufgefangen und größere Blutklumpen aus ihr mit steriler Hand in sterile Glasschalen übertragen, wo sich bald das Serum, stets, wie bekannt, rascher und ergiebiger als beim Nabelblut, abschied. Das Nabelschnurblut, dessen Gerinnungstendenz recht träge ist, ließ man durch Lockern der Nabelschnurklemme direkt ins Röhrchen laufen. Die Untersuchungen erfolgten umgehend, abgesehen von den Isoagglutinationsprüfungen, über die ich weiter unten berichte.

Es wurde bei sämtlichen Seren die Agglutination geprüft gegen einen Shiga-Kruse-Stamm, gegen je 4 Pseudoruhrstämme, ferner bei 15 Seren von Kreißenden bzw. Hochschwangeren und bei 13 Nabelschnurseren auch gegen Typhus-, Paratyphus A- und B- und Proteus-X 19-Bazillen; außerdem wurde bei 23 Graviden- und 19 Nabelschnurseren auch das Verhalten von Choleravibrionen, bei der Mehrzahl aller Seren schließlich die Agglutination des Micrococcus melitensis geprüft. Ich wiederhole es hier tabellarisch.

Uebersicht der Zahl der untersuchten Seren.

	Typhus	Paratyphus A	Paratyphus B	Shiga	Flexner	Y 1800	Y 398	Y rga	Cholera	Melitensis	X 19
Kreißende bzw. Hochschwangere											
aktiv	15	15	15	50	50	50	50	50	24	40	15
inaktiviert	.	.	.	13	13	13	13	13	13	18	.
Nabelschnurseren											
aktiv	13	13	13	43	43	44	43	43	19	34	.
inaktiviert	.	.	.	.	.	.	.	.	.	2	.
Frauenseren mit negativer Wa.R.											
inaktiviert	.	.	.	50	50	50	50	50	.	50	.
Männerseren mit negativer Wa.R.											
inaktiviert	.	.	.	50	50	50	50	50	.	50	.
Seren luetischer Frauen											
inaktiviert	4	4	4	4	4	4	4	4	.	.	4
Seren luetischer Männer											
inaktiviert	4	4	4	4	4	4	4	4	.	.	4

Bei einem großen Teil der Schwangeren- und Nabelschnurseren wurde die aktuelle Azidität mit Indikator gemessen, bei sämtlichen Seren, soweit noch Substanz verfügbar, die Refraktion mit Hilfe des Löweschen Interferometers[1]) der Firma Zeiss, schließlich ihre Zugehörigkeit zu den Hämisoagglutiningruppen bestimmt.

a) Agglutination.

Zur Agglutination wurden, vom Micrococcus Melitensis abgesehen, der auf allen benutzten Nährböden sehr langsam wächst, 24stünd. Agarkulturen verwendet. deren Rasen in etwa 10—15 ccm physiologischer Kochsalzlösung aufgeschwemmt wurden; die Emulsionen der verschiedenen Stämme wurden durch Verdünnen in jedem Versuch schätzungsweise auf die gleiche Trübung eingestellt. Bei Verwendung der Oesenabmessung hätte man schwer von dem stets nur zart wachsenden Melitensis den anderen Keimen entsprechende Mengen abmessen können.

Von den Bakterienemulsionen wurden gleiche Teile den Serumverdünnungen zugesetzt, so daß Gemische von je 1 ccm 1:20, 1:40, 1:80, 1:160, 1:320 Serumgehalt sich ergaben, die Röhrchen 2 Std. im Brutschrank, 18—22 Std. bei Zimmertemperatur gehalten und das Resultat nach mäßigem Aufschütteln bei der schwachen Lupenvergrößerung des Agglutinoskops von Kuhn und Woithe abgelesen, eventuell die Verdünnungen mit dem im Eisschrank gelagerten Serum bis zur Titergrenze fortgesetzt. Da der Begriff der vollständigen Agglutination in Verdünnung 1:100, so brauchbar er als diagnostisches Kriterium beim Typhus-Widal allgemein angesehen wird, bei dieser vergleichenden Untersuchung des Agglutinationsvermögens verschiedener Seren zu subjektiv erschien, wurde in jeder Verdünnung in den Originalprotokollen der Ausfall notiert; als maßgebend wird im folgenden die letzte Verdünnung angesehen, in der noch deutliche, wenn auch feine Flockung resultierte.

Die Ergebnisse sind selbstverständlich nur im Vergleich untereinander zu bewerten; und das hat noch zur Voraussetzung, daß die

1) Das Interferometer ist dem Hygienischen Institut von der Notgemeinschaft der Deutschen Wissenschaft in dankenswerter Weise geliehen worden.

benutzten Stämme im Verlauf der Arbeit konstantes Verhalten zeigen. Darauf komme ich später noch zurück.

Für einen Vergleich der Agglutinationsergebnisse verschiedener Beobachter wäre es mindestens nötig, daß man die spezifische Neigung der verwandten Bakterienstämme zur Flockung, ihre Agglutinierbarkeit messend charakterisieren könnte. Vorschütz nahm als solches Merkmal die Feststellung der eben (umladenden?) ausflockenden Konzentration von dreiwertigen Kationen wie Lanthan, also eine Agglutination durch einen bekannten chemischen Körper.

Die Bakterienflockbarkeit durch Stoffe bekannter Struktur (meist Salze und Farbstoffe) geht aber durchaus nicht gleichlaufend, ja man könnte geradezu sagen, oft entgegengesetzt der Serumagglutination. So unterliegen z. B. Typhusbazillen der Ausflockung durch Schwermetallsalze ungleich viel stärker als Ruhrbazillen (Eisenberg).

Ich habe daher in meinen Versuchen von dieser Methode abgesehen.

Die verwendeten Kulturen.

Die Agglutination mit den Stämmen Typhus Schönaich, Paratyphus A Nr. 2359 und Paratyphus B Nr. 2108 und Proteus X 19, die in der Untersuchungsabteilung des Hygienischen Institutes Breslau als Teststämme im täglichen Gebrauch waren, wurde bald abgebrochen, nachdem sie, wie nach den Voruntersuchungen zu erwarten, annähernd immer negativ ausfiel.

Der benutzte Shiga-Kruse-Stamm Nr. 3076 verhielt sich im Gärversuch mit Barsiekowschen Lösungen typisch. Sein Titer mit Immunserum war meist 1:200 (19. 2., 15. 5., 19. 6.), einmal 1:400 (29. 5. 23); gewiß ein niedriger Titer, mit dem man sich aber angesichts der Schwierigkeit, bei der starken Giftwirkung dieser Erreger die Immunisierung genügend fortzusetzen, begnügen mußte. Eine schlechte Flockbarkeit dieses Stammes, der $^3/_4$ Jahr zuvor mit einem anderen Immunserum bis 1:1600 agglutinierte, ist nicht wahrscheinlich; es pflegt sich ja eher bei häufiger Ueberimpfung die Agglutinierbarkeit entgegen der Tiervirulenz zu heben; dieser Stamm war seit 8. 3. 22 in täglichem Gebrauch.

Verwandt wurde weiterhin ein Flexner-Stamm Flex. 402, dessen Titer am 19. 2. 23 1:1600, mit einem anderen spezifischen Serum am 29. 5. 1:3200, am 19. 6. 1:12800 war. In Lackmusnährböden zeigte er am 15. 5. 23 typisches Verhalten.

Die starken Titerschwankungen, die wohl auf eine entsprechend wechselnde Flockbarkeit schließen lassen, müssen wir bei Bewertung der Resultate im Auge behalten.

Ferner wurden ein mehrere Jahre alter Laboratoriums-Y-Stamm Y 1800, der seit Monaten als Teststamm im Gebrauch war, ein etwas jüngeres Y 398 aus der Sammlung des Instituts und ein vom Reichsgesundheitsamt übersandter Y rga verwandt.

Am 19. 2. 23. waren die Titer bei allen dreien 1:3200, mit anderem Immunserum am

15. 5. 23 bei	Y 1800 1:1600	Y 398 1:6400	Y rga 1:800
29. 5. 23 „	Y 1800 1:3200	Y 398 1:12800	Y rga 1:12800
19. 6. 23 „	Y 1800 1:800	Y 398 1:800	Y rga 1:1600

Auch hier müssen die starken Schwankungen in zum Teil kurzen Zeiträumen hervorgehoben werden. Sie zeigen sich auch sonst bei den Ruhrbazillen in den Protokollen der bakteriologischen Untersuchungsabteilung des Instituts.

Der benutzte Cholerastamm El Tor hatte einen Immunserumtiter von 1:3200. Seine Verwendung hatte hinsichtlich der von Hausherr berichteten schwankenden Resultate der Gravidserumagglutinationen mit Choleravibrionen Interesse.

Untersucht wurde ferner die Agglutination des Micrococcus melitensis. Doch mußte der zunächst gebrauchte Sammlungsstamm „Wright" bald wegen Spontanagglutination ausgeschaltet werden. Seine natürlich sehr hohen Titer werden darum nicht verwertet. Im Hinblick auf die Ergebnisse von Hausherr mit dem einen Y-Stamm, die, wie oben bemerkt, wegen Spontanagglutination keine beweiskräftige Vergleiche erlauben, ist zu erwähnen, daß dieser

Melitensis-Stamm Wright 5 Monate später bei nur monatlicher Weiterimpfung die Spontanagglutination verloren hatte, von einem spezifischen, nicht hochwertigen Kaninchenserum bis 1:640 agglutiniert wurde.

Weiterhin wurde dann ein von der Balkanhalbinsel stammender Melitensis-Stamm der Sammlung Král benutzt[1]). Von seiner spezifischen Pathogenität lieferte eine Laboratoriumsinfektion, die durch Zerbrechen einer Reagenzglaskultur beim Aufschwemmen infolge kleiner Glassplitterverletzungen an der Hand zustande kam, unzweifelhaften Beweis[2]). Da dieser Keim auch auf zucker-, eiweiß- oder bluthaltigen Nährböden sehr langsam wächst, wurden 3—4tägige Agarkulturen zur Agglutination benutzt. Bei der Melitensis-Agglutination ist zu beachten, daß die Inaktivierung des Serums — die sämtlichen Vergleichsseren der 50 Männer und 50 Frauen erhielt ich inaktiviert — die Agglutination wesentlich herabsetzt (Nègre et Raynaud). Zur Gegenprobe wurden 16 Retroplazentarseren und Nabelschnursera auch inaktiviert untersucht (Tabelle 7).

b) Aktuelle Reaktion der Seren.

Um der Frage des Einflusses der aktuellen Reaktion des Serums auf die Höhe des Titers noch einmal näher zu treten, wurde nach der Indikatorenmethode, wie sie von Friedenthal und Salm, Fels, Salessky, besonders Sörensen und Michaelis eingeführt wurde, in der Form, wie sie z. B. für Nährbödenprüfung nach dem Vorgange von Michaelis (3) benutzt wird, die PH = der negative Logarithmus der Wasserstoffionenkonzentration (als normale Lösung berechnet) geschätzt. Die Ergebnisse können natürlich nicht den Vergleich mit den über 10mal genaueren Werten, wie sie die Potentialmessung von Wasserstoffgasketten liefert, aushalten. Der weitere Salz- und Eiweißfehler der Indikatoren wird allerdings bei Verwendung des m-Nitrophenol nach Michaelis gering sein, auch bei allen diesen Untersuchungen immer in derselben Richtung verlaufen und von wenig wechselnder Größe sein.

Im Walpoleschen Komparator wurden einerseits 0,5 ccm Serum mit 6,5 ccm physiologischer Kochsalzlösung (statt 2—1 bzw. 5—6 bei Michaelis) hinter den fertigen Indikatorentestlösungen verschiedener PH, wie sie E. Leitz, Berlin NW, Luisenstr. 45, liefert, andererseits 0,5 ccm Serum mit 1 ccm einer 0,3proz. Lösung von m-Nitrophenol und 5,5 ccm Salzlösung hinter Wasser in Jenaer Reagenzgläschen mit und ohne Blauscheibe bei Tageslicht verglichen. Die Testlösungen haben Intervalle von 0,2 PH, die Hälfte davon kann noch gut geschätzt werden. Wegen der Knappheit des Materials mußte ich allerdings statt 2 oder 1 ccm in der Originalvorschrift nur 0,5 ccm Serum verwenden. Wenn Michaelis (3) sagt, von der Verwendung von nur 1 statt 2 ccm hängt das Resultat nicht ab, so tritt zweifelsohne bei weiterer Verringerung der Serummengen ein Absinken der beobachteten Werte ein, das bei Mengen unter 0,5 ccm Serum die Bestimmung sogar völlig illusorisch macht. Statt 7,8 PH bei 1 ccm hat man z. B. etwa 7,6 PH bei 0,5 ccm. Die durchgehende Verwendung von 0,5 ccm gestattet wohl wenigstens einen Vergleich innerhalb der Reihe. Der Einfluß der Kohlensäure wurde nicht geprüft, doch kann wohl angenommen werden, daß die Seren, die meist einige Stunden bis zur Untersuchung gestanden hatten, sich auf die Kohlensäurespannung der äußeren Luft eingestellt hatten.

c) Interferometrie.

Die bestechende Empfindlichkeit der Refraktionsmessung mit dem Interferometer, das nach Paul Hirsch (2) noch den Nachweis von Konzentrationsveränderungen bis zu 0,001 % (z. B. bis zu 0,02 mg Pepton) unter gewissen Umständen gestattet, ließ es verlockend erscheinen, mit diesem Instrument zu untersuchen, ob man eine physikalische Veränderung, etwa eine Erhöhung des Refraktionswertes, bei Vermehrung der Normalagglutinine finden könnte. Wenn man offenbar bei hochwertigen Immunseren, deren Titer ja bis über 1:1000000 gehen kann, daran zweifeln muß, ob man überhaupt eine chemische oder physikalische Eigenschaft finden wird, die den Nachweis des Agglutinins mit auch nur annähernd der gleichen Größenordnung von Empfindlichkeit gestatten könnte, wie eben diese Agglutini-

1) Ich bin Herrn Prof. Přibram für die gütige Ueberlassung der Kultur sehr dankbar.

2) Dies., Centralbl. Abt. I. Orig. Bd. 91. 1924. S. 423.

nation, so ist von vornherein bei Normalagglutininen auch möglich und ja für die Globulinfraktion bereits erörtert, daß hier die Agglutination sozusagen nur eine Nebenvalenz eines in verhältnismäßig höherer Konzentration vorkommenden, vielleicht also refraktometrisch faßbaren Körper ist.

Nach dem Vorgang von Langenstraß und Bachmann wurde das Serum mit 0,9proz. Kochsalzlösung zehnfach verdünnt und gegen diese in der 10 mm langen Kammer ausgemessen. Entsprechend der Feststellung von Langenstraß, daß bei dieser Anordnung der Interferometerwert für Temperaturerhöhung von 1° weniger als 1 Trommelteilstrich (gleich dem Ablesungsfehler nach längerer Uebung) absinkt, wurde von einer Temperaturkorrektur der Messungen abgesehen. Die Verdünnung des Serums aufs zehnfache mit Kochsalzlösung, die sich wegen der Eigenart des Instruments nicht umgehen läßt, bedingt jedoch eine bedeutende Fehlerquelle, die bei künftigen Untersuchungen dieser Art unbedingt ausgemerzt werden muß, wenn das Interferometer seine Ueberlegenheit gegenüber dem Refraktometer zur Geltung bringen soll. Die käuflichen Pipetten sind erheblich ungenau. Als Ausweg bei dieser Vergleichsuntersuchung immer die gleichen Pipetten zu benutzen, war wegen der Notwendigkeit, mit sterilem Werkzeug in Reihenuntersuchungen zu arbeiten, und bei der Unmöglichkeit, zur Verwendung immer der gleichen, nicht sterilen Pipette bei kleinen Mengen das Serum verlustvoll umzufüllen, nicht angängig. Immerhin wurde für den Zusatz der Kochsalzlösung immer die gleiche 10 ccm-Pipette benutzt. Je nach der verfügbaren Menge wurde 0,2, 0,3, 0,5 ccm Serum verdünnt. Dieser Verdünnungsfehler betrug bis 59 Trommelteilstriche, im Durchschnitt von 4 Versuchen mit absichtlich so gewählten, sehr different vermuteten Pipetten 18 Teilstriche.

d) Isohaemagglutination.

Bisher war bei den Erklärungsversuchen der Gravidenserumagglutination nur von der Blutsenkung die Rede, die durch sogenannte Agglutination der eigenen Blutkörperchen durch das Plasma hervorgerufen wird. Da die Bakterienagglutination bei Löwenthal, seltener als die Blutsenkung, gerade in etwa 40 Proz. der Fälle erheblich war, konnte man auch an eine Beziehung jener zu einer der Hämisoagglutinationsgruppen, von denen zwei ja auch etwa in dieser Häufigkeit vorkommen, denken, zumal bisher Untersuchungen über solche Beziehungen, soweit mir bekannt, nicht vorliegen.

Nachdem die Hämisoagglutination, d. i. die agglutinierende Wirkung des Serums von manchen Menschen auf die Blutkörperchen mancher anderer Individuen zunächst als spezifisches Krankheitszeichen mißdeutet worden war, stellte Landsteiner (2, 3) sie als allgemeines Vorkommnis mit bestimmten gruppenmäßigen Regeln fest. Diese Gesetzmäßigkeit wurde dann als Einteilung in 4 Gruppen, unabhängig voneinander, umfassend nachgewiesen von Jansky 1907 in Böhmen, von v. Dungern und Hirschfeld in Heidelberg und von Moss in Nordamerika 1910. Da auf diesem Gebiete viel Verwirrung besteht, gehe ich auf die Nomenklatur in ihren 3 verschiedenen Formen ein:

Am meisten historisch berechtigt ist die Bezeichnung von Jansky, die in letzter Zeit mehr Boden gewinnt. Die gebräuchlichste ist wohl zurzeit die von Moss. Als theoretische Unterlage dient jetzt allgemein die Lehre von Landsteiner, v. Dungern und Hirschfeld von der Existenz zweier Agglutinine, die einzeln, zusammen oder auch gar nicht im betreffenden Serum vorkommen können, und zweier entsprechender empfänglicher Strukturen an den Erythrozyten, wobei nie in einem Blut die Struktur vorkäme, auf die das im gleichen Blut vorhandene Agglutinin wirke.

Unter Hinweis auf das mnemotechnisch empfehlenswerte Schema, das von Sanford stammt, unlängst von Scholten und Nather und Ochsner wiedergegeben wurde, benutzte ich die Einteilung von Moss.

Er unterscheidet, wie gesagt, 4 Gruppen. Innerhalb einer jeden wirkt das Serum eines Menschen nicht auf die Blutkörperchen des anderen ein.

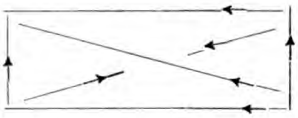
Die 4. Gruppe nach Moss hat zum Kennzeichen die völlige Inagglutinabilität ihrer Blutkörperchen. („Keine agglutinierbare Struktur" nach v. Dungern und Hirschfeld.) Da sie als Spender bei Jedermann, soweit die Ottenberg-

sche Regel zutrifft, verwendet werden kann, wird sie auch als die Allgemeine Spendergruppe bezeichnet (Universal Donor). Dieser Unempfindlichkeit der Blutkörperchen entspricht umgekehrt der Besitz beider beim Menschen vorkommender Agglutinine (α und β nach v. Dungern und Hirschfeld) in den Seren dieser Gruppe, so daß diese sämtliche, anderen Gruppen angehörende, Erythrozyten agglutinieren.

Am entgegengesetzten Pol steht die Gruppe 1, deren Serum keinerlei agglutinierende Fähigkeit hat, während ihre Blutkörperchen vom Serum jeder anderen Gruppe agglutiniert werden. Es ist dies die reine Empfängergruppe.

Es bleiben die Gruppen 2 und 3, die sich obigen Regeln fügen, bei denen das Serum der einen die Körperchen der anderen wechselseitig beeinflußt, die häufigere (2) und seltenere (3) reziproke Gruppe (nach dem Zahlenverhältnis, wie es bei amerikanischen und europäischen Ariern besteht).

Im Sanfordschen Schema deutet die Pfeilrichtung Agglutination des Serums der Gruppe, von der der Pfeil kommt, auf die Körperchen der Gruppe an, zu der er hinführt:



Gruppe 1 entspricht Struktur der Körperchen A und B bei v. Dungern und Hirschfeld, Fehlen der Agglutinine im Serum.
Gruppe 2 entspricht Struktur A, Agglutinin β.
Gruppe 3 „ „ B, „ α.
Gruppe 4 „ dem Fehlen der agglutinablen Strukturen = O bei v. Dungern und Hirschfeld, Agglutinine α und β.

Die Janskysche Bezeichnung vertauscht die Bezeichnung von Gruppe 1 und 4, ist sonst identisch. Ihr folgen z. B. neuerdings Kurt Meyer und Hedwig Ziskoven, die sie als die „amerikanische" bezeichnen. Sie gewinnt tatsächlich jetzt auf den Prioritätsanspruch von Jansky (2) hin dort immer mehr Boden. Dort sind übrigens noch mehrere andere Bezeichnungen der Agglutinine und agglutinabeln Substanzen (Rezeptoren) üblich. Durch die Vielheit der Nomenklatur ist vieles z. B. in Referaten, in denen die Art der Bezeichnung nicht angegeben wird, mißverständlich.

Mit den Ausdrücken Spendergruppe, Empfängergruppe, häufigere und seltenere reziproke Gruppe ließen sich schließlich solche Verwechslungen umgehen.

Die Anschauungen der ersten Autoren auf diesem Gebiete, ich nenne Martin oder Schenck, der an eine Vermehrung des Isoagglutinins im Wochenbett glaubte, schienen nach Auffinden der soeben berichteten Gesetzmäßigkeiten, für deren ausnahmslose Gültigkeit sich Moss sehr entschieden aussprach, überholt; erneut gewannen sie Interesse, als durch die Untersuchungen von Eden und Diemer bekannt wurde, daß die verschiedensten Eingriffe, Medikamente, wie Chinin, Arsen, Antipyrin, Calcium in therapeutischen Dosen, Aether- und Chloroformnarkose, Höhensonnen- und Röntgenbestrahlungen, besonders rasch aber galvanische Durchströmung des Körpers, eine zeitweilige Aenderung der Gruppenzugehörigkeit, meist im Sinne einer Verschiebung von Gruppe 4 über 2, seltener von 3 nach 1, bewirken. (Dabei wurde nur die einfache Prüfung mit Testseren zugrunde gelegt.) Es zeigten sich dabei oft gewisse Uebergangsreaktionen, die nicht ganz ins Schema paßten.

Meyer und Ziskoven bestreiten aber neuerdings eine Veränderlichkeit auf Grund der makroskopischen Prüfung sowohl des Serums, als auch der Erythrozyten mit bekannten Erythrozyten und Seren. Sie erklären die andersartigen Resultate Edens und Diemers, sowie auch von Vorschütz (5) mit einer wahrscheinlichen Verwechslung der echten Agglutination mit der Geldrollenbildung bei verstärkter Sedimentation.

---

1) Nach Ottenberg habe man bei Bluttransfusionen nur zu vermeiden, daß das Serum des Empfängers Agglutinine für die Blutkörperchen des Spenders enthält.

Wie bald von vielen die makroskopische Prüfung auf Isoagglutinine (0,25—0,5 ccm Serum + 0,25—0,5 ccm 5proz. Suspension von gewaschenen Blutkörperchen) durch die bequemere mikroskopische z. B. von Moss selbst ersetzt wurde, so wurde diese auch bei vorliegenden Untersuchungen angewandt. In Analogie zu den jüngsten Feststellungen von Fusao Ishiwara für die Bakterienagglutination kann man auch hier die mikroskopische Methode als die empfindlichere betrachten. Vor fälschlich positiven Resultaten schützten Kontrollen in zugehörigen Seren und in Kochsalzlösung.

Nachdem die Verwendung der Blutkörperchen aus dem geronnenen Blut der Kreißenden und Neugeborenen trotz Waschen und Ausscheiden der sich rasch senkenden gröberen Partikel in mehreren Reihen Unstimmigkeiten gegen die Theorie, z. B. auch Spontanagglutination oder Autoagglutination im eigenen Serum, ergeben hatten, wurden nur noch die Seren benutzt, die mit $^1/_{10}$ Volum 5proz. Karbollösung etwa nach dem Vorgang von Beth versetzt, im Eisschrank aufgehoben wurden. Unter Zuhilfenahme von Testseren der Gruppen 2 und 3, die ich der Liebenswürdigkeit von Herrn Professor Dr. Koenigsfeld, Oberarzt der medizinischen Poliklinik Freiburg, verdanke, unter Benutzung von jedesmal frischen Blutkörperchen von Assistenten und Laborantinnen der Untersuchungsabteilung, sowie von Patienten der Wutschutzabteilung des Instituts und des Städt. Wenzel-Hancke-Krankenhauses Breslau, denen allen ich zu Dank verpflichtet bin, wurden dann in Reihenuntersuchungen die aufgehobenen Seren soweit möglich identifiziert. Meist wurde Fingerbeerenblut mit wenig 3proz. Natriumzitratlösung aufgenommen, teils in Glaskapillaren zentrifugiert, um auch das Serum wechselseitig zu prüfen, teils direkt mit isotonischer Kochsalzlösung auf der Zentrifuge gewaschen und auf eine schätzungsweise etwa 5proz. Suspension eingestellt. Davon wurden dann mit Kapillaren je 20 Tröpfchen der jeweils benutzten Blutkörperchenart, zu denen mit sterilen Glasstäben ca. 5mal größere Tropfen der verschiedenen Seren zugesetzt wurden, auf den kleineren Hälften von leicht eingefetteten Petrischalen im vorgezeichneten Zickzack angeordnet; diese wurden umgekehrt und in die mit ca. 1,5 ccm Wasser beschickten größeren Hälften eingestellt und so feuchte Kammern hergestellt.

Wenn in den Arbeiten über die Eignungsprüfung vor Bluttransfusionen und wenn man wie Moss mit frischem Serum arbeiten kann, immer wieder die krasse Scheidung in deutlich positive und deutlich negative Fälle hervorgehoben wurde, und eine ganz kurze Beobachtungszeit für genügend erklärt wird, so darf man das keineswegs durchweg auf auch nur wenige Tage, geschweige denn lange Zeit aufgehobene Seren übertragen. Die Agglutination braucht da nicht selten Stunden, um zweifelsfrei und zuweilen sogar stark positiv zu werden. Die endgültige Ablesung der Resultate nahm ich somit erst nach 20 Std. vor. Ueberhaupt verlangt die Beurteilung des Ausfalls in einigen Fällen Erfahrung, wie sie erst längere Beschäftigung mit der Sache gibt, um einigermaßen sicher zu gehen.

Ich hebe das besonders hervor, weil man z. B. nach dem Tenor mancher amerikanischer Veröffentlichungen glauben könnte, die Gruppeneinteilung wäre für jedermann einfach, sicher und einwandfrei festzustellen. Mancher Zwischenfall bei Transfusionen, der trotz Beachtung der Regeln, wie sie sich aus der Gruppenzugehörigkeit er-

geben, eintrat, beruht wohl auf diesen Unsicherheiten und Fehlerquellen der Beobachtung (siehe auch Jervell).

Nicht zu selten erfolgt z. B. statt der Agglutination mit Bildung eines Netzes oder von Haufen von verklumpten Zellen, zunächst nichts Auffälliges; doch verrät sich eine Zustandsänderung allerdings oft für den Kundigen durch einen gewissen Glanz und Farbvertiefung der gleichmäßig verteilten Erythrozyten oder dadurch, daß die Scheibe der in der Kuppe des Tropfens abwärts und zusammen sedimentierten Zellen gerade in dieser Peripherie, statt wie im negativen Falle, im Zentrum, am dichtesten ist. Kräftige Erschütterung löst dann die Zerteilung in Klumpen und Schollen aus. Auch Umrühren mit einem Glasstab kann zu diesem Ziele führen.

Ich beziehe mich im folgenden nur auf Resultate, die bei vielfacher Prüfung übereinstimmten. (Im ganzen sind über 70 Blutkörperchenarten zur Untersuchung herangezogen worden.)

7. Ergebnisse der Versuche.

Die Untersuchungsresultate kann ich an dieser Stelle nur im Auszug bringen (siehe Dissertation, Breslau 1923).

a) Agglutination.

In den Tabellen I—IV ist für 44 Kreißende bzw. Hochschwangere, ferner für je 50 Männer und Frauen, deren Wassermannsche Reaktion negativ ausfiel, und für 44 Nabelschnurseren dargestellt, wie oft die Agglutination von Ruhrbazillen und Melitensis-Kokken (zum Teil auch von Typhus-, Paratyphus A- und B-, Proteus-X 19-Bazillen und Choleravibrionen) in der Verdünnung 1:20 negativ war und wie oft ein Endtiter von 1:20, 1:40, 1:80, 1:160, 1:320, 1:640 vorkam.

Es wäre unkritisch, auf die absoluten Zahlen (die ja in Wirklichkeit auch nur relativ sind) zu großes Gewicht zu legen. Erörtern wir sie zunächst:

Wie zu erwarten, fehlte die Agglutination von Typhus-, Paratyphus A- und B-, auch die von Proteus-X 19-Bazillen durch Schwangerenseren und erst recht auch bei den Nabelseren gänzlich; sie wurde deshalb nur bei einem Teil der Seren angestellt und nicht weiter fortgesetzt.

Zu erwähnen ist, daß hier die Choleraagglutination von 24 Gravidenseren gleichfalls negativ ist. Das wäre eine Ergänzung zu dem Resultat von Hausherr, das in dieser Hinsicht infolge Spontanagglutination unsicher war; gegenüber der leichten Agglutinabilität der Choleravibrionen, die Jos. Vorschütz untersuchte, liegt die Vermutung nahe, daß sie bei einer größeren Zahl von Kontrollen mit Normalseren Erwachsener wohl auch bei ihm in Erscheinung getreten wäre.

Wenn ich nun die Agglutinationen der Nabelseren vorweg nehme, so sind die fehlenden Flockungen von Typhus-, Paratyphus A- und B-, Shiga-Kruse-, Flexner-, den 3 Y-Stämmen und Cholera und Proteus nur eine Bestätigung allgemeiner Erfahrung (siehe Einleitung). Bei Ruhrerregern findet sich nur durch ein Nabelschnur-

Tabelle I.

Agglutination von Seren von 50 Kreißenden bzw. Hochschwangeren mit

	Typhus	Paratyphus A	Paratyphus B	Shiga	Flexner	Y 1800	Y 398	Y rga	Cholora	Melitensis	X 19	
negativ 1:20 bei	10	10	13	19	13	6	19	18	21	5	12	Fällen
positiv bis 1:20 „	2	1	1	14	12	6	14	7	2	9	3	„
„ „ 1:40 „	2	3	1	11	11	13	7	9	1	10	.	„
„ „ 1:80 „	1	1	.	6	8	16	8	6	.	7	.	„
„ „ 1:160 „	.	.	.	.	3	8	1	10	.	5	.	„
„ „ 1:320 „	.	.	.	.	3	1	1	.	.	3	.	„
„ „ 1:640 „	.	.	.	.	.	.	.	.	.	1	.	„
Gesamt	15	15	15	50	50	50	50	50	24	40	15	Fälle
Durchschnittstiter[1]) 1:				24	56	70	33	51				

Tabelle II.

Agglutination von 50 Frauenseren mit negativem Wassermann ($^1/_2$ Stunde bei 55° C inaktiviert).

	Shiga	Flexner	Y 1800	Y 398	Y rga	Melitensis	
negativ 1:20 bei	16	5	4	4	.	46	Fällen
positiv bis 1:20 „	14		7	6	2	2	„
„ „ 1:40 „	11	7	11	9	4	1	„
„ „ 1:80 „	8	10	19	11	14	1	„
„ „ 1:160 „	1	19	8	14	21	.	„
„ „ 1:320 „	.	8	1	6	8	.	„
„ „ 1:640 „	.	1	.	.	1	.	„
Durchschnittstiter 1:	30	146	74	114	157	3	

Tabelle III.

Agglutination von 50 Männerseren mit negativem Wassermann ($^1/_2$ Stunde bei 55° C inaktiviert).

	Shiga	Flexner	Y 1800	Y 398	Y rga	Melitensis	
negativ 1:20 bei	11	4	3	8	1	44	Fällen
positiv bis 1:20 „	21	4	10	4	2	4	„
„ „ 1:40 „	13	10	17	19	10	2	„
„ „ 1:80 „	5	16	15	11	13	.	„
„ „ 1:160 „	.	13	4	7	19	.	„
„ „ 1:320 „	.	3	1	.	4	.	„
„ „ 1:640 „	.	.	.	.	1	.	„
Durchschnittstiter 1:	27	96	61	57	103	3	

serum eine nennenswerte Agglutination (bis 1:80) der Stämme Flexner und Y 1800. Auch Kruse, Rittershaus, Kemp und Metz erwähnen solche Ausnahmen selbst bis 1:100.

Die Frage der Ursache des Mangels an Antikörpern beim Neugeborenen hängt aufs engste mit der nach dem Wesen der normalen

1) Vgl. Seite 564.

Tabelle IV.
Agglutination von 44 Nabelschnurseren mit

		Typhus	Paratyphus A	Paratyphus B	Shiga	Flexner	Y 1800	Y 398	Y rga	Cholera	Melitensis	X 19	
negativ	1:20 bei	13	13	13	40	40	41	39	38	17	1	13	Fällen
positiv bis	1:20 „	.	.	.	3	2	1	4	2	1	2	.	„
„ „	1:40 „	.	.	.	.	.	1	.	3	1	4	.	„
„ „	1:80 „	.	.	.	.	1	1	.	.	.	18	.	„
„ „	1:160 „	.		.	.	.	.	.	.	.	8	.	„
„ „	1:320 „	.	.	.	.	.	.	.	.	.	1	.	„
	Gesamt	13	13	13	43	43	44	43	43	19	34	13	Fälle

Antikörper überhaupt, ob sie (auch heterologe) Reste von Immunagglutininen oder Nebenvalenzen von anderen Zwecken dienenden Stoffen, z. B. der Globuline sind, zusammen. Bei den bisherigen widerstreitenden Resultaten der Autoren ist das mehr Sache des Glaubens als des Wissens. Ich erörtere her nur die Bedeutung der Globuline: Es läge nahe — ist auch von Vorschütz geschehen — das Fehlen der Agglutinine beim Neugeborenen auf entsprechend niedriges Globulin-Albuminverhältnis zurückzuführen. Hier liegen Untersuchungen mit Hilfe der Nägeli-Rohrerschen Methode, die viskosimetrisch das bedeutend stärker visköse Globulin, refraktometrisch das Gesamteiweiß bestimmt, von Alder und Schiff und Roser vor.

Z. B. fand Adler 20—45 Proz. durchschnittlich 32 Proz. vom Gesamteiweiß als Globulin bei gesunden Erwachsenen, bei 21 Neugeborenen 10—40 Proz., durchschnittlich 23 Proz. Globulin, z. B. bei der Mutter 38 Proz., beim Kinde 34 Proz., bezw. 24 und 16 Proz. in einem anderen Falle.

Jedenfalls ist diese Frage noch nicht genügend geklärt; trotz einer Annahme eines Fehlers der Bestimmung von etwa 5 Proz. (Rohrer gibt ihn auf 2—3 Proz. an) deckt ein großer Teil des Schwankungsbereiches der Globulinprozente bei Neugeborenen sich mit dem der Erwachsenen ganz im Gegensatz zur krassen Scheidung in der Agglutination.

Zur Veranschaulichung des Vergleichs der agglutinierenden Durchschnittswirkung wenigstens auf Flexner-, Shiga-Kruse, die 3 Y-Stämme und Melitensis der Gruppen der Schwangeren, der der nichtschwangeren Frauen und der der Männer habe ich in Tabelle 5 die Zahl von Fällen, die in jeder Gruppe in den vorkommenden Verdünnungen negativ oder positiv waren, kurvenförmig aufgetragen; dies Verfahren hat als Vergleichsunterlage strenge Gültigkeit allerdings nur bei sehr hohen Zahlen und der Feststellung des Endtiters bis auf kleinste Intervalle, nicht wie hier bei geometrischer Progression mit dem Faktor 2. Trotzdem zeigt doch eine ganze Reihe der Kurven einen stetig zu nennenden Verlauf (auffallende Ausnahmen: Shiga-Kruse bei den nicht graviden Frauen, Y 1800 und Y rga bei den Graviden), so daß man in Annäherung diese Betrachtungsart wohl für berechtigt halten kann.

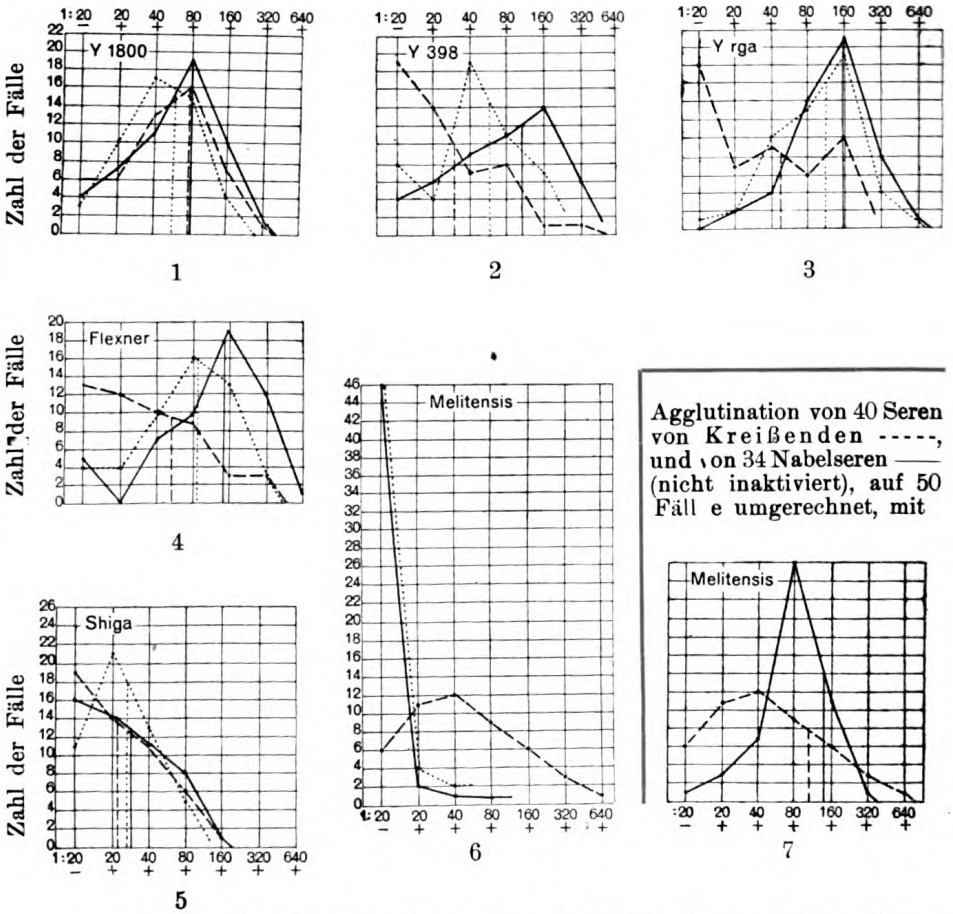
Zum schärferen Anhalt für diesen Vergleich habe ich den Durchschnittstiter jeder Gruppe für jeden Erreger ermittelt, indem ich

die Zahl der in Serumverdünnung 1:20 positiven mit 20,
" " " " " 1:40 " " 40,
" " " " " 1:80 " " 80

usw. multiplizierte, die Summe dieser Produkte durch die Anzahl der Fälle (einschl. der in Serumverdünnung 1:20 negativen) (meist 50) dividierte und in dem Punkte, der dieser Zahl auf der Abszissen-(Titer-)axe entspricht, ein Lot bis zu der betreffenden Kurve errichtete. Die Abstände der Fußpunkte dieser Lote vom Nullpunkt können also als Durchschnittsmaß der Agglutinationswirkung der betreffenden Gruppe auf den betreffenden Keim verglichen werden. (Tabelle V.)

Tabelle V.

Agglutination der Seren von 50 nicht graviden, 50 graviden Frauen und 50 Männern gegen
In Verdünnung



Agglutinationstiter gegen Pseudodysenterie und Melitensis von 50 aktiven Schwangerenseren ----, 50 inaktivierten Seren nicht gravider Frauen——, und 50 inaktivierten Männerseren .....

Die Entfernungen der entsprechend gezeichneten Lote von der Ordinatenachse geben den mittleren Agglutinationstiter der betreffenden Gruppe an.

Man kann aus diesen Kurven wohl nur den Schluß ziehen, daß der Agglutiningehalt von Schwangerenseren bei den benutzten Stämmen von Flexner-, Shiga-Kruse- und Y-Ruhrbazillen keineswegs den von nichtgraviden Frauen oder von Männern übertrifft.

Die Verhältnisse bei den 3 Gruppen würden wohl bei größeren Zahlen und bei einer auf kürzere Zeit zusammengedrängten Untersuchung sich immer mehr der Gleichheit nähern. Man kann das wenigstens daraus vermutend folgern, daß das hier um so mehr der Fall ist, je stetiger der Kurvenverlauf ist, als Ausdruck für den Ausgleich zufälliger Schwankungen z. B. bei Y 1800 und Shiga.

Ich hüte mich durchaus, wozu man bei Betrachtung dieser Aufstellung verleitet sein könnte, umgekehrt zu schließen, daß etwa die Agglutination des benutzten Flexner oder von Y 398 oder Y rga im Gravidenserum schlechter als im anderen erfolge. Man muß die Schwankungen der Agglutinierbarkeit der betreffenden Bakterien in jedem Abschnitt der Untersuchung berücksichtigen. Da der größte Teil der Schwangerenseren in den ersten Monaten der Arbeit untersucht wurde, läßt sich die stärkere Agglutination, z. B. von Flexner durch Normalseren mit dem inzwischen erfolgten Anstieg der Agglutinierbarkeit der Bazillen, soweit diese sich aus dem Immunserumtiter erschließen läßt, in Verbindung bringen.

Man könnte aber auch umgekehrt daraus den Analogieschluß wagen, daß sich vielleicht die Differenzen der Agglutinationskraft im Gravid- oder Puerperalserum und Normalserum bei Löwenthal und Bertkau

Tabelle VI.
Agglutination bei Luetikern.

	Typhus	Parat. A	Parat. B	Shiga	Flex.	Y 1800	Y 398	Y rga	X 19
A. Männer									
Nr. 11 Lues II in Wismut-Neosalvarsanbehandlung	III	II	0	III	III	III	III	III	0
Nr. 16 Lues II in Wismut-Neosalvarsanbehandlung	II	II	I	I	III	IIII	II	III	0
Nr. 17 Lues II in Wismut-Neosalvarsanbehandlung	0	0	0	II	I	III	II	III	0
Nr. 12 Lues latens. Nach der 4. Salvarsan-(Kalomel)kur Wassermann noch pos.	I	III	II	II	III	III	III	III	.
B. Frauen									
Nr. 18 Lues II florida vor Behandlung	0	0	0	II	I	III	0	III	0
Nr. 13 Lues latens. 3. Kur mit Wismut-Neosalvarsan	0	III	II	IIII	III	III	I	0	I
Nr. 14 Lues II. Erscheinungsfrei in Wismut-Neosalvarsankur	0	0	II	IIII	IIII	IIII	III	III	I
Nr. 19 Lues II. Erscheinungsfrei in Wismut-Neosalvarsankur	0	0	0	III	I	IIII	0	IIII	II
(Nr. 25 M Kreißende mit frischer Lues II, erscheinungsfreiem Kinde [siehe auch Tabelle I]	0	0	0	0	0	I	I	0	0)

durch entsprechende Differenzen der Agglutinierbarkeit der im jeweiligen Zeitabschnitt benutzten Bakterien erklären ließen. Man denke da etwa an die Gruppe der Dirnen bei Löwenthal (1) mit ihrer verstärkten Y-Ruhragglutination, für deren Erklärung durch Salvarsanwirkung, wie oben dargelegt, genügend widerspruchslose Daten fehlen, und wo man viel eher als Grund Zufallsgruppierung annehmen könnte.

In Tabelle VI ist ein kleiner unzureichender Beitrag zu dieser Frage in der Agglutination von je 4 Seren luetischer Männer und Frauen, die in Quecksilber- bzw. Wismut- und Neosalvarsanbehandlung standen, dargestellt. Dieser Punkt bedarf noch weiterer Bearbeitung. Die Ergebnisse der Tabelle irgendwie zu deuten, ist bei ihrem geringen Umfang nicht zulässig. Auffallend starke Agglutinationen fehlen auch darin[1]).

Ich kann jedenfalls sagen, besteht gegen gewisse Stämme von Y- oder Flexner-Ruhrbazillen ein Unterschied im durchschnittlichen Agglutiningehalt von Graviden- und anderen Seren im Sinne Löwenthals, so kann er nur in und unter der Größenordnung der zufälligen und jeweiligen Schwankungen der Agglutinierbarkeit der Bakterien, die bei Ruhrerregern im allgemeinen und besonders beim gleichen Stamm im Laufe der Zeit entschieden stärker wechselt, als z. B. bei denen des Typhus, und eben nur für gewisse Stämme zutreffen; bei den von mir untersuchten vermißte ich ihn.

Die Agglutination der Flexner- und der 3 Y-Stämme steht nach meinen Originaltabellen in einem gewissen lockeren Zusammenhang miteinander, indem hohe Agglutination bei einem Stamm mehr oder minder ausgesprochene Flockung auch bei den anderen bedingt; eine feste Gesetzmäßigkeit jedoch besteht nicht. Aehnliches gilt vom Shiga-Kruse-Stamm, nur wird dieser durchweg schwächer agglutiniert.

Ich komme nun kurz zur Frage der Flockungsgröße der Ruhragglutinate. Nur die grobe Flockung wird sonst als spezifisch angesehen (Friedemann und Steinbock, Dünner, Schiemann, Köhler, Jakobitz und Schmidt: Bei der Agglutination mit spezifischen Immunseren hatten bei mir Shiga-Kruse und Flexner nur feine, die 3 Y-Stämme dagegen grobe Flockung wenigstens in den stärkeren Serumkonzentrationen. Bei den Agglutinationen mit Normalseren zeigten Shiga-Kruse, Flexner, Y 398 und Y rga sehr geringe Neigung zu grober Flockung, die höchstens selten in den stärksten Serumlösungen vorkam. Grobe Flockung in den Verdünnungen der untersuchten 194 Seren von 1:40 oder mehr fehlte bei Shiga-Kruse, von 1:80 oder mehr aber auch bei Flexner, Y 398 und Y rga gänzlich; bei Y 1800 war die Flockung grob noch bei 1:80 (nicht höher) bei 2 Seren von Luetikern, einer Kreißenden und einer Schwangeren im 7. Monat. Vielleicht könnte man in diesen Fällen eine möglicherweise weit zurückliegende Ruhr annehmen. Der Stamm Y rga zeichnete sich bei diesen unspezifischen Seren durchweg durch ausgesprochen feinkörnige Flockung aus.

Die Hausherrsche Prüfung der Aetherlöslichkeit des Schwangerenagglutinins schien einer Wiederholung mit exakterer Methodik zu bedürfen. Dazu wurde ein Retroplazentarserum in mehreren Teilen in einem heizbaren Vakuum-

1) Erklärung der Zeichen 0, I, II usw. auf folgender Seite.

trockner der Universitätshautklinik Breslau bei Temperaturen unter 40° C eingetrocknet und zum Teil in Filtrierpapierhülsen im Aetherdampf extrahiert, der Extrakt zum Teil zu flüssigen, nicht agglutinierenden Nabelseren, zum Teil zu ebenfalls getrocknetem und auf gleiche Weise entfetteten Nabelserum zugesetzt. Nach Auflösen der einzelnen Fraktionen zeigt sich bei guter Uebereinstimmung der Kontrollen keine Spur von Aetherlöslichkeit des Agglutinins.

Wie es auch Löwenthal nachgewiesen hatte, war das Inaktivieren auf die Agglutination von Cholera und von den Ruhrbazillen im Gravidenserum in 13 Fällen ohne Einfluß (Tab. VIIb).

Tabelle VII.

Einfluß des Inaktivierens auf die Agglutination

A. Melitensis-Agglutination.

mit Serum	nativ	inaktiviert
31 M	IIIII	0
32 M	II	I
33 M	IIIII	IIII
34 M	IIII	0
35 M	III	III
36 M	II	III
38 M	IIII	II
39 M	II	0
40 M	III	II
41 M	II	0
42 M	I	I
43 M	I	0
44 M	0	0
81 Schwangere im 8. Monat	II	0
89 M	0	0
109 M	I	0
121 M	I	0
122 M	I	0
121 N	III	0
122 N	III	0

B. Agglutination mit Choleravibrionen, Flexner-, Y 1800-, Y 398-, Y rga- und Shiga-Kruse-Ruhrbazillen fiel bei den ersten 13 nebenstehenden Seren im inaktivierten fast überall genau so wie im nativen aus.

Zeichenerklärung: 0 Agglutination negativ in Verdünnung 1:20
I „ positiv „ „ 1:40
II „ „ „ „ 1:80
III „ „ „ „ 1:160 usw.

Für die Frage einer Differenz zwischen Graviden- und Normalserum lassen sich meine Melitensisagglutinationen kaum verwerten, da die Normalsera durch das Inaktivieren ihre Agglutinine fast immer eingebüßt hatten. Bei 100 Seren von Männern und nichtschwangeren Frauen war trotz Inaktivieren die Melitensis-Agglutination in Verdünnung 1:20 6mal, bis 1:40 3mal, 1:80 1mal noch positiv, während sie bei 40 Schwangeren oder Kreißenden im aktiven Serum 1:20 negativ nur 5mal, bis höchstens 1:20 positiv 9mal, 1:40 positiv 10mal, 1:80 7mal, 1:60 5mal, 1:320 3mal, 1:640 1mal positiv war. (Siehe Tabelle I—IV und VII.) Beim Inaktivieren von 18 mütterlichen (und 2 Nabelschnur-) Seren, das ich vergleichsweise vornahm, war

dagegen diese Einbuße der Agglutination auffallend gering (Tabelle VII); 2mal blieb sie bis 1:20, 2mal bis 1:40, 2mal bis 1:80, 1mal bis 1:160 erhalten. Vielleicht spielt hier eine Rolle der Umstand, daß im allgemeinen die inaktivierten Wassermann-Seren etwa 20 Std. älter (und dadurch vielleicht weiter im Sinne der Inaktivierung verändert) als die Kreißendensera zur Untersuchung kamen. Das Material ist jedenfalls zu gering, um bei den kleinen Ausschlägen ein endgültiges Urteil abgeben zu können.

b) Aktuelle Reaktion.

Die Prüfung der aktuellen Azidität der Sera ergab keinerlei Beziehungen zu der Stärke der Agglutination; sie wurde deshalb nur bei den Kreißenden und Nabelseren angestellt und nicht weiter verfolgt. P_H war durchschnittlich 7,6. Wie Michaelis und Davidsohn gezeigt haben, daß die spezifische Fällung und Agglutination in weiten Grenzen unabhängig von der H-Konzentration ist, so kann man, bei aller Unvollkommenheit der angewandten Methodik, dies hier auch bei der Ruhr- und Melitensis-Agglutination bestätigt sehen.

c) Interferometrie.

Die Ergebnisse der Interferometrie schwankten gleichfalls sehr erheblich aber unabhängig von dem Agglutinationstiter gegen jeden benutzten Bakterienstamm. Man wird ihnen also keinen anderen Wert beilegen dürfen, als sie im Sinne von Reiß als relativen Maßstab für den Eiweißgehalt zu nehmen, da dieser den größten Teil der Refraktion ausmacht und wesentlich er allein wechselt.

Meinen Tabellen entnehme ich für 4 Schwangerenseren (Venenblut):

Interferometerwerte von 973—1167	im	Mittel	1051,
für 36 Kreißende (Retroplazentarblut) (437) 651—1212	„	„	925,
für 40 nicht gravide Frauen (Venenblut) 1008—(1361) 1577	„	„	1203,
für 41 Männer (Venenblut) 968—1369	„	„	1185,
für 32 Nabelschnurseren 470—1114	„	„	897.

Die Uebereinstimmung der Durchschnittswerte der Männer und Frauen ist gut (die Differenz von 18 Interferometerteilstrichen liegt in der Größenordnung des Fehlers der Volumabmessung mit verschiedenen Pipetten.).

Bei der Verwendung von Retroplazentarserum besteht nun die Möglichkeit einer Fehlerquelle in Beimengungen von Fruchtwasser, also einer Flüssigkeit von geringer Konzentration und Refraktion (Interferometerwert 55 bei zehnfacher Verdünnung mit und gegen 0,9proz. Kochsalzlösung in der 10 mm-Kammer).

Wenn ich diesen Fehler auch auszuschalten suchte, indem ich nur kompakte Blutkruorklumpen aufheben ließ, aus denen sich später das Serum abschied, so werden doch einzelne abnorm niedrige Werte, wie z. B. 437 in einem Falle, nur auf solche Beimischungen zurückführen sein. Im ganzen genommen und unter Berücksichtigung auch des Venenblutes der Schwangeren kann man trotzdem aus diesen Zahlen gegenüber der kleinen Reihe von Farkas und Scipiades eine Bestätigung der Angabe von Zangemeister und Mahnert entnehmen, daß die Schwangerschaft den prozentischen Eiweißgehalt des Serums erniedrigt.

Die an der Gefrierpunktserniedrigung gemessene Abnahme der molekularen Konzentration im Schwangerenserum, die nur die Nicht-Elektrolyte geringerer Molekulargröße, die sog. intermediären Stoffwechselprodukte, beim Gleichbleiben der elektrischen Leitfähigkeit trifft (Farkas und Scipiades), ist zu geringfügig (höchstens um 4 Proz.), um einen Einfluß auf die Refraktion in einer solchen Größe zu gewinnen, daß sich die Eiweißwerte um Zehntelprozente ändern. Da man mit der Mutter anzunehmen hat, gilt das gleiche auch für die Erniedrigung der Reder Mütter anzunehmen hat, gilt das gleiche auch für die Erniedrigung der Refraktion des Serums von Neugeborenen, aus der wir auf eine entsprechende Verringerung der Eiweißmenge schließen dürfen.

d) Hämisoagglutination.

Die Stärke der Agglutination von Ruhr- oder Maltafiebererregern hing mit keiner der Isoagglutiningruppen zusammen.

In jeder der 4 Gruppen kommen kräftige wie schwache Agglutinationen der Bakterien vor.

Interesse bot das verhältnismäßig häufige Vorkommen der agglutininlosen Empfängergruppe 1 bei den Neugeborenen, das schon Langer vorgefunden hat und schon besprochen wurde. Von 31 hieraufhin untersuchten Nabelseren gehörten 16 zur Gruppe 1, während von 107 der übrigen Seren nur 8 zu ihr gehörten.

8. Schlußbetrachtung.

Die verstärkte „physiologische" Agglutination von Pseudoruhrbazillen durch Schwangerenseren war bei kritischer Methodik nicht nachweisbar.

Gegenüber den andersartigen Resultaten von Hausherr und Vorschütz ist zu bedenken, daß die Zahl ihrer Kontrolluntersuchungen von Normalseren zu gering ist, um einen sicheren Vergleich zu erlauben.

Aber auch die wesentlich umfangreicheren Untersuchungen Löwenthals (3) und Bertkaus lassen den Einwand zu, daß durch eine Zufallsgruppierung sich eine scheinbar stärkere Agglutination der Pseudoruhrbazillen durch Schwangerenseren ergeben hätte. Findet sich doch in deren Material eine solche andere Gruppe mit verstärkter Agglutination, die der Dirnen, für die eine sicher stichhaltige Erklärung fehlt, so daß man auch in ihr nur ein Beispiel für eine solche Zufallsgruppierung erblicken kann.

Bei dem Vergleich der Normalseren und Schwangerenseren Löwenthals sind 3 Fehlerquellen möglich: einmal eine Auslese in dem Sinne, daß der Kreis der Schwangeren einer Ruhrbazilleninvasion stärker als der übrige untersuchte Bevölkerungsanteil ausgesetzt gewesen wäre, dann vor allem die zu verschiedenen Untersuchungszeiten wechselnde Flockbarkeit der Pseudoruhrbazillen, die zur Zeit der Schwangerenserenuntersuchungen labiler gewesen sein können, schließ-

lich ist auch die Beurteilung der Agglutination bei einer bestimmten Verdünnung wohl etwas subjektiver als die Feststellung des Endtiters.

Für fernere Klärung der aufgerollten Fragen ist ein Gesichtspunkt hervorzuheben:

Der Globulinfraktion im ganzen genommen kann man nicht die Rolle von Normalagglutininen zuschreiben. Denn die Globulinprozentschwankungen sind nicht proportional der Agglutination, die, wesensverschieden von der Sedimentation, gegenüber verschiedenen Bakterien, vielleicht auch unabhängig von ihrer elektrisch-kolloiden Ladung schwankt.

Wenn man eine Globulinvermehrung bei Graviden annehmen kann, — quantitativ ist sie noch zu belegen —, so entsprechen ihr kaum verstärkte Bakterienagglutinationswerte.

Wenn die Globuline beim Neugeborenen spärlich sind, so sind bei ihnen andererseits die Normalagglutinine noch erheblich weiter vermindert, als der Globulinarmut entspricht.

Die Rolle des Globulins und der in seinen Fällungen enthaltenen Teilkörper und der Einfluß seiner Flockungsbereitschaft bei der Agglutination ist noch ungeklärt.

Literaturverzeichnis.

Agazzi, Ztschr. f. Immunitätsf. Abt. 1. Orig. Bd. 1. 1909. S. 736. — Alder, Dtsch. Arch. f. klin. Med. Bd. 126. 1918. S. 61. — Bachmann, Ztschr. f. Immunitätsf. Abt. I. Orig. Bd. 33. 1922. S. 551; Bd. 35. 1923. S. 462. — Bauer, Else, Biochem. Ztschr. Bd. 83. 1917. — Bechhold, H., Die Kolloide in Biologie und Medizin. Dresden 1912. — Bleyer, Leo, Ztschr. f. Immunitätsf. Abt. I. Orig. Bd. 33. 1922. S. 478. — Bokelmann und Rother, J., Ztschr. f. d. ges. exper. Med. Bd. 33. 1923. S. 111. — Borchardt, Münch. med. Woch. 1919. S. 870. — Borčić, Biochem. Ztschr. Bd. 106. 1920. — Brossa, Ztschr. f. Immunitätsf. Abt. I. Orig. Bd. 37. 1923. S. 211. — Bürgi, Arch. f. Hyg. Bd. 62. 1907. S. 239; Korrespondenzbl. f. Schweiz. Aerzte. 1907. — Chauffard, Laroche et Grigaut bei O. Ehrentheil u. W. Weiß-Ostborn, Ztschr. f. Immunitätsf. Abt. I. Orig. Bd. 36. 1923. S. 356. — Collins, K., nach Landsteiner im Handbuch d. pathog. Mikroorganism. von Kolle-Wassermann. Bd. II. 2. 1913. S. 1287. — Davidson, siehe Michaelis! — Diemer, Mitteil. a. d. Grenzgeb. d. Med. u. Chir. Bd. 35. 1922. S. 464. — Dieudonné, Med. Klin. 1906. S. 575. — Döll, siehe v. Fellenberg. — v. Dungern u. Hirschfeld, Ztschr. f. Immunitätsf. Abt. I. Orig. Bd. 4. 1910. S. 531; Bd. 6. 1910. S. 284; Bd. 8. 1911. S. 526. — Dünner, Berl. klin. Woch. 1915. S. 1184. — Eden, Dtsch. med. Woch. 1922. S. 83. — Ehrentheil, O., u. Weiß-Ostborn, W., Ztschr. f. Immunitätsf. Abt. I. Orig. Bd. 36. 1923. S. 356. — Ehrlich, Ztschr. f. Hyg. Bd. 12. 1892; nach Kolle-Wassermann. Bd. II. 2. 1913. S. 1175. — Ehrlich u. Hübener, Ztschr. f. Hyg. Bd. 18. 1894; nach Kolle-Wassermann. Bd. II. 2. 1913. — Eisenberg, Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 83. 1920. S. 70, 472, 561. — Farkas u. Scipiades, Pflügers Arch. f. d. ges. Physiol. Bd. 98. 1903. S. 577. — v. Fellenberg u. Döll, Ztschr. f. Geburtsh. u. Gyn. Bd. 75. 1914. S. 285. — Fels, s. bei Paul Hirsch! — Friedberger u. Masuda, Therap. Monatsh. 1911. — Friedemann, siehe Steinbock! — Friedenthal, Handb. d. biochem. Arbeitsmeth. v. Abderhalden. Bd. I. S. 534. — Grigaut, siehe Chauffard! — Hage, Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 90. 1923. S. 209. — Hahn u. Langer, Ztschr. f. Immunit.-Forsch. Bd. 26. 1917. S. 199. — Halban u. Landsteiner, Wien. klin. Woch.

1901. S. 1270; Münch. med. Woch. 1902. S. 473. — Hasselbalch u. Gammeltoft, Biochem. Ztschr. Bd. 68. 1915. S. 206. — Hasselbalch, Biochem. Ztschr. Bd. 78. 1917. S. 112. — Hausherr, Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 87. 1920. S. 895. — Herrmann, s. Neumann! — Herzfeld und Klinger, Biochem. Ztschr. Bd. 83. 1912. — Hirsch, Paul, Fermentstudien. Jena 1917. S. 58. S. 25. — Ders., Abderhaldens Handb. d. biochem. Arbeitsmethoden. Bd. 8. 1914. S. 561. — Hirschfeld, s. auch v. Dungern! — Höber, Pflügers Arch. Bd. 101. 1904. S. 607; Bd. 102. 1904. S. 196. — Huffmann, bei Ehrentheil u. Weiß-Ostborn. — Jaggi, Ztschr. f. Immunit.-Forsch. Abt. I. Orig. Bd. 36. 1923. S. 482. — Jakobitz, Berl. klin. Woch. 1916. S. 718. — Jansky, 1) Klinicki Sbornik 1907. Nr. 12, refer. im Jahresber. f. Neurologie u. Psychiatrie. 1907. — Ders., 2) Journ. of the Amer. Med. Assoc. Vol. 76. 1921. p. 130. — Jervell, Mitteil. a. d. Grenzgeb. d. Med. u. Chir. Bd. 34. 1922. S. 650. — Ders., Journ. of Immunology. 1921. S. 445. — Jötten, Arb. a. d. Reichsgesundheitsamt. Bd. 52. 1921. — Kemp, siehe Kruse! — Klinger, s. Herzfeld! — Köhler, Münch. med. Woch. 1918. S. 725. — Kottmann, Korrespondenzbl. f. Schw. Aerzte. 1919. S. 433. — Kozawa, Biochem. Ztschr. Bd. 60. 1914. S. 46. — Kritschewsky, ebenda, Bd. 126. 1921. S. 11. — Kruse, Rittershaus, Kemp u. Metz, Ztschr. f. Hyg. Bd. 57. 1907. S. 417. — Landau, Ztschr. f. Hyg. Bd. 86. 1918. S. 260. — Landsteiner, 1) siehe Halban! — Ders., 2) Münch. med. Woch. 1902. Nr. 46. — Ders., 3) Hämagglutination im Handb. d. Biochemie von Oppenheimer (Literatur!) Bd. 2. Teil 1. Jena 1909. — Langenstraß, Fermentforsch. Bd. 3. 1920. S. 1. — Langer, Josef, Ztschr. f. Heilk. Bd. 24. 1903. III. — Langer, siehe auch Hahn! — Langstein, siehe Brossa! — Laroche, siehe Chauffard! — Laudat, siehe Widal! — v. Laube, Sitzungsber. d. phys.-med. Ges. Würzburg 1906. S. 21. — Linzenmeyer, Arch. f. Gyn. Bd. 113. 1920. S. 608; ausführlicher Pflügers Arch. f. d. ges. Physiol. Bd. 181. 1920. S. 169; Bd. 186. 1921. S. 272. — Löhr, Hans, Ztschr. f. d. ges. exper. Med. Bd. 24. 1921. S. 57. — Ders., ebenda, Bd. 27/28. 1922. — Löwe, F., Ztschr. f. Instrumentenkunde. Bd. 30. 1910. S. 321. — Löwenthal, Waldemar, 1) Ztschr. f. Hyg. Bd. 72. 1912. S. 250. — Löwenthal und Bertkau, 2) Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 83. 1919. S. 314. — Löwenthal, 3) Ztschr. f. Immunitätsf. Orig. Bd. 30. 1920. S. 439. — Mahnert, Arch. f. Gyn. Bd. 114. 1921. S. 186. — Mamlock, Leontine, Arch. f. Hyg. Bd. 63. 1909. S. 95. — Martin, Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 39. 1905. S. 704. — Masuda, s. Friedberger! — Matthes, Centralbl. f. Gyn. 1901. S. 66. — Mayer, s. Brossa! — Metz, s. Kruse! — Meyer, Kurt, u. Ziskoven, Hedwig, Med. Klin. 1923. S. 87. — Michaelis, Leonor, 1) Die Wasserstoffionenkonzentration. Berlin (Springer) 1914. S. 103. — Michaelis u. Davidson, 2) Biochem. Ztschr. Bd. 47. 1914. S. 59. — Dies., 3) Dtsch. med. Woch. 1921. S. 465. — Moss, Bullet. of the Johns Hopkins Hosp. Vol. 2. 1910. p. 63; Journ. Amer. med. Assoc. Vol. 68. II, 1917. p. 1905. — Müller, G., Dissert. Bonn 1901, zitiert nach Kolle-Wassermann. Bd. II. 2. 1913. S. 1166. Müller, Paul Theodor, Arch. f. Hyg. Bd. 51. 1904. S. 365. Wien. klin. Woch. 1903; Centralbl. f. Bakt. Bd. 34. 1903. S. 458, 550, 700. — Naegele, s. Rohrer! — Nather, Karl u. Ochsner, Alton, Wiener klin. Woch. 1923. S. 687. — Nègre et Raynaud, Compt. rend. Soc. d. Biol. T. 70. 1911. p. 472; Annal. d. l'Inst. Pasteur. T. 25. 1911. p. 619. — Neilson u. Wheelon, refer. in den Ber. über d. ges. Physiol. u. exper. Pharm. von Oppenheimer u. Rona. Bd. 9. — Neumann u. Herrmann, Edm., Wien. klin. Woch. 1911. S. 411. — Ochsner, s. Nather! — v. Oettingen, s. Sachs! — Pfeiler, Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 85. 1921. S. 97. — Pfenninger, ebenda, Bd. 80. 1918. S. 200. — Polano, nach Kolle-Wassermann, Bd. 2. S. 1166. — Raynaud, s. Nègre. — Reiß, Emil, Arch. f. exper. Path. u. Therap. Bd. 51. 1903/04. S. 18; Jahrb. f. Kinderheilk. 3. F. Bd. 70. S. 311; Handb. f. biochem. Arbeitsmeth. Abderhalden, Bd. 8. 1914. S. 84. — Reiter, Ztschr. f. Immunitätsforsch. Orig. Bd. 5. 1912. S. 116. — Resinelli, nach Kolle-Wassermann, Bd. II. 2. 1913. S. 1165. — Rittershaus, s. Kruse. — Röhmann, Biochemie. Berlin (Springer) 1908. S. 667. — Rohrer, Dtsch. Arch. f. klin. Med. Bd. 121. 1916. — Rolly, Dtsch. Ztschr. f. Nervenheilk. Bd. 47/48. 1913. — Rosenthal und Holzer, Berliner klin. Woch. 1921. S. 675. — Roser, s. Schiff! — Rostowsky, Dtsch. med. Woch. 1905. S. 691. — Rothberger, Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 41. S. 469, 562. — Rother, s. Bokelmann? — Sachs u. v. Oettingen, Münch. med. Woch. 1921. S. 351. — Salessky, s. Paul Hirsch! — Salm,

s. Paul Hirsch! — Sanford, Journ. Amer. Med. Assoc. Vol. 70. II. 1918. April-June. — Schenck, (Münch. med. Woch. 1905. S. 1623; Centralbl. f. Gyn. 1905. Nr. 78. — Schiemann, O., Ztschr. f. Hyg. Bd. 82. 1916. S. 405. — Schiff u. Roser, Monatsschr. f. Kinderheilk. Bd. 19. 1921. S. 15. — Schlimpert, Berl. klin. Woch. 1913. S. 617. — Schmidt, Ztschr. f. Hyg. Bd. 81. 1916. S. 57. — Scipiades, s. Farkas! — So, Wien. klin. Woch. 1911. S. 452. — Sonne, Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 75. 1915. S. 408; ebenda. Bd. 76. 1915. S. 65. — Sörensen, Biochem. Zeitschr. Bd. 21. 1910. S. 131. — Stäubli, Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 36 1904. S. 443. — Steinbock u. Friedemann, Dtsch. med. Woch. 1916. S. 215. — Stuber, Münch. med. Woch. 1915. S. 1173; Biochem Zeitschr. Bd. 77. 1916. S. 388. — Tigerstedt, s. Brossa! — Trommsdorf, Ztschr. f. Immunitätsf. Abt. I. Orig. Bd. 32. 1921 S. 379. — Vorschütz, Josef 1) Pflügers Arch. Bd. 186. 1921. S. 290. — Ders., Josef u. Johann, 2) Mitteil. a. d. Grenzgeb. d. Med. u. Chir. Bd. 34. 1922. S. 662. — Ders., Josef, 3) Ctrbll. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 88. 1923. S. 391. — Ders., 4) Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 90. 1923. S. 105. — Ders., 5) Ztschr. f. klin. Med. Bd. 94. 1922. S. 459. — Weill, s. Widal! — Weiß-Ostborn, s. Luger, auch Ehrentheil! — Weszecsky, Biochem. Ztschr. Bd. 107. 1920. S. 159. — Wheelon, s. Neilson! — Widowitz, Wien. klin. Woch. 1923. S. 220. — Zangemeister, Ztschr. f. Geburtsh. u. Gyn. Bd. 49. 1903. S. 92. — Ziskoven, s. Kurt Meyer!

Nachdruck verboten.

Serum-Farbstoffphänomene.

[Aus dem Kaiser-Wilhelm-Institut für experimentelle Therapie und Biochemie, Berlin-Dahlem.]

Von Dr. **Felix Klopstock.**

In Jahrgang I, Nr. 24 der Klin. Woch. hat Dold 3 Serum-Farbstoffphänomene beschrieben, nämlich 1. die rasche Entfärbung eines Nilblau-Serumgemisches durch Erwärmen auf 56°, 2. die rasche Entfärbung eines Brillantreinblau-Serumgemisches durch Erwärmen auf 56° und 3. charakteristische Veränderungen (Entfärbung und Ausfällung) einer Neutralrotlösung unter dem Einfluß von Serum. Alle 3 Serumfarbstoffphänomene werden durch Zusatz von Formol gehemmt.

In einer weiteren Mitteilung (Jahrg. 2, Nr. 44 der Klin. Woch.) hat Dold die Entfärbung von Nilblau und Brillantreinblau durch Serum zu erklären versucht. Die Entfärbung stellt nach ihm wahrscheinlich einen Reduktionsvorgang dar, bewirkt durch im Serum vorhandene Reduktasen. Der Reduktionsvorgang ist sehr abhängig von der Temperatur und wird durch höhere Temperaturen (z. B. 56°) stark beschleunigt. Gelagerte Sera verhalten sich im allgemeinen wie frische. Vorheriges längeres Erwärmen der Sera auf 56° und mehr bewirkt keine auffallende und regelmäßige Schädigung der Reduktionswirkung der Sera. Exsudate, Transsudate, Punktate, sowie Organgewebe enthalten ebenfalls derartige Nilblau bzw. Brillantreinblau reduzierende Stoffe in verschiedenen Mengen.

Gelegentlich meiner Komplementadsorptionsversuche[1]) mit kolloidallöslichen Farbstoffen beobachtete ich eine Reihe weiterer Serumfarbstoffphänomene. Ich erstatte über sie kurz Bericht und nehme zu der von Dold gegebenen Erklärung Stellung.

1) vergl. Biochemische Zeitschrift. Bd. 149. Heft 3/4.

I. Dieselbe Eigenschaft wie das Nilblau zeigt ein so vielfach gebräuchlicher Farstoff wie das Methylenblau: Ein Methylenblau-Serumgemisch blaßt bei Erhitzen ab; die ursprüngliche Färbung stellt sich allmählich bei Stehenlassen wieder ein; schließt man ein Methylenblau-Serumgemisch durch eine Paraffindecke gegen die Luft ab, so erfolgt eine allmähliche Entfärbung. Das Nilblau gehört zu den Oxazinfarbstoffen, Methylenblau zu den naheverwandten Thiazinen. bei denen der ringbildende Sauerstoff der Oxazine durch Schwefel ersetzt ist. Oxazine und Thiazine können zu Leukobasen reduziert werden und regenerieren an der Luft wieder zu Farbstoff[2]).

Aus der Reihe der Triphenylmethanfarbstoffe wird nicht nur das Brillantreinblau, sondern eine große Reihe weiterer Farbstoffe durch Serum zu Leukobasen reduziert: Brillantgrün, Malachitgrün, Methylgrün, Wasserblau, Nachtblau und andere mehr). Methylviolett erfährt einen Farbenumschlag ins Rötliche. Die Entfärbung ist am ausgesprochendsten bei dem Nachtblauserumgemisch. Eine 0,1proz. Nachtblauverdünnung wird noch durch 10fach verdünntes Serum bei Zimmertemperatur allmählich, bei Brutschranktemperatur nach 15 Min., bei Erhitzen rasch völlig entfärbt. 'Bei den Triphenylmethanfarbstoffen findet, wie ja Dold bereits hervorgehoben hat, im Gegensatz zu den Oxazinen und auch Thiazinen keine Regeneration der Farbstoffe an der Luft statt; sie erfolgt sofort mit Säurezusatz. Die außerordentlich leichte Reduzierbarkeit des Nachtblaus und die Regenerierung des Farbstoffes durch Säure macht Nachtblau zu einem vorzüglichen Indikator für säurebildende Bakterien: Auf einem Nachtblaumilchzuckeragar wachsen Coli-Bazillen tiefblau, Typhusbazillen farblos.

II. Nun zur Ursache dieser Entfärbungsphänomene, die Dold in dem Gehalt des Serums an Reduktasen sieht.

Erhitzt man das Serum bis zur völligen Koagulation und setzt dem koagulierten Eiweiß den Farbstoff zu, so tritt noch immer Ablassung des Farbstoffes auf. Auch einstündiges Kochen einer Serumverdünnung 1:10 hebt nicht die Entfärbung des Nachtblaus auf. Gelangt statt Serumeiweiß Eiereiweiß zur Verwendung, so entwickeln sich die beschriebenen Phänomene in gleicher Weise. Auch Bakterieneiweiß ruft die gleichen Erscheinungen hervor.

Dold selbst hebt ja hervor, daß auch längere Einwirkung höherer Temperaturen auf die Sera vor Anstellung des Versuchs (fünfstundenlanges Erwärmen auf 56°, kurze Zeit Erhitzen auf 65°) die Reduktasen nicht oder kaum zu schädigen imstande ist, und daß auch andere Körperflüssigkeiten, sowie das Organgewebe einen wechselnden Gehalt an solchen reduzierenden Stoffen besitzen.

Ich sehe, wenn nicht nur Serum, sondern auch Ei- und Bakterieneiweiß — natives, wie koaguliertes Eiweiß — Exsudate, Trahssudate, Organgewebe die Phänomene auslösen, den Grund nicht in einem Gehalt an Reduktasen, sondern in der Eigenschaft des Eiweiß, diesen Farbstoffen gegenüber als schwache Base zu wirken. Die Hemmung der Entfärbungsphänomene durch Formol ist dadurch begründet, daß Aldehyde aus den Leukobasen den Farbstoff zu regenerieren vermögen.

---

1) Nilblau BB zeichnet sich durch eine besonders starke Empfindlichkeit gegen Alkalien aus.

Die Leukobase des Fuchsins findet ja als Indikator für Aldehyde Verwendung!

III. Ich habe schließlich geprüft, ob diesen Farbstoffphänomenen irgendeine praktische Bedeutung zukommt. Diese Versuche sind negativ ausgefallen. Die Entfärbung ist nicht nur durch aktives und inaktives Serum, sondern auch durch Normalserum, Luesserum, Tuberkuloseserum etc. in gleicher Weise auslösbar.

Nachdruck verboten.

Einiges über filtrierbare Virusarten und das „Kulturvirus" der Maul- und Klauenseuche.

Von Professor Dr. **W. Pfeiler-Jena.**

Wenn auch für einzelne Erreger aus der Gruppe der sog. filtrierbaren Virusarten in den letzten 20—30 Jahren immer wieder Ansätze zur Züchtung gemacht worden sind, so ist doch eine systematische Arbeit auf diesem Gebiete nicht zu verzeichnen gewesen, offenbar weil sich die Fach-Bakteriologen und Protozoologen resigniert auf den Standpunkt gestellt hatten, daß mit Hilfe der üblichen Untersuchungsverfahren die Erreger nicht darzustellen, insbesondere nicht nach den Methoden der Kochschen Bakterienkultur zu züchten seien. Es kann als feststehend und für einzelne Krankheitserreger als erwiesen angesehen werden, daß die relativ einfachen Bakteriennährböden Kochs diesen anspruchsvolleren Mikroorganismen nicht für die Entwicklung genügten. Auch muß wohl prinzipiell bis auf weiteres an der Auffassung festgehalten werden, daß nicht jeder filtrierbare Mikroorganismus mit dem sog. bakteriologischen Züchtungsverfahren kultivierbar zu sein braucht. Denn es kann sich dabei um Kleinlebewesen handeln, die überhaupt nichts mit den Bakterien zu tun haben, oder, selbst wenn sie in das Pflanzenreich gehören sollten, nur auf erheblich andere Weise zu kultivieren sind als die gewöhnlichen Bakterien.

Bresche in dieses unerforschte und dunkle Gebiet ist nun nach und nach gelegt worden. Zunächst zeigte sich, daß die sog. Ultravisibilität garnicht für alle Erreger besteht. Der sog. Erreger der Lungenseuche ist so vor $1^1/_2$ Jahrzehnten genau beschrieben und morphologisch sehr weitgehend von den Franzosen und Belgiern, 1913 durch Engelhardt und mich studiert worden. Diese Untersuchungen sind von weiteren deutschen Autoren, durch Poppe, später Titze, Giese und andere nachgeprüft und bestätigt worden.

Wenn Schikora anführt: „Erkennen ließ sich der Erreger bis dahin nicht. Er präsentiert sich als eine vollkommen strukturlose weißliche „Schmiere", die aller Deutung Widerstand leistete. Froschs unausgesetzten Bemühungen, die einen ungemein geübten, allen Zwischenfällen gewachsenen Wissenschaftler und Mikrophotographen voraussetzten, gelang es endlich, alle sich bietenden Schwierigkeiten zu überwinden und wissenschaftlich beweiskräftige Photogramme zu erhalten. Da entpuppte sich denn der Lungenseuchenerreger als ein Hefepilz von bisher ungeahnter Kleinheit, der sich in der Lunge erkrankter Tiere nun in gleicher Weise nachweisen ließ, und der nunmehr nach der Methode, die bei den anderen größeren pflanzlichen Krankheitserregern angewendet wird, zur Bekämpfung der von ihm selber hervorgerufenen Seuche mit vollem Zielbewußtsein verwendet werden kann. Selbstverständlich gebührt Frosch für diesen Erreger der ungeschmälerte Entdeckerruhm, der dem zugeteilt werden muß, der ihn zuerst in seiner Gestalt gesehen nnd nach seinen morphologischen Kennzeichen nach Gattung und Art erkannt hat.", so ist dies eine Darstellung, die unzutreffend ist bezüglich der Entdeckung des sog. Erregers der Lungenseuche. Die mündlichen Ausführungen, die Frosch und Dahmen hierüber mehrfach gemacht haben, sind mißverstanden worden. In ihren schriftlichen Berichten findet sich

keine Unterlage für diese Behauptung. Die mündlichen Darlegungen müssen hier zu allerdings begreiflichen Irrungen geführt haben. Es liegt nicht im Interesse der deutschen Wissenschaft, wenn durch derartige Unrichtigkeiten sowohl in Deutschland als im Auslande die Meinung entsteht, als ob wir die Befunde früherer Autoren übergehen wollten!

Auch bei den anderen Krankheitserregern, wie denen der Pocken, der Tollwut, der Schweinepest, der Maul- und Klauenseuche, des Flecktyphus, sind bereits wesentliche Fortschritte in bezug auf die morphologische Darstellung bzw. die Züchtung gemacht worden. Die Fornetschen Versuche zur Züchtung des Pocken-Erregers sprechen allerdings nicht für Gesetzmäßigkeiten. Bei der Tollwut sind besonders von J. Koch, Noguchi, meinen früheren Mitarbeitern Kapfberger, Klump und mir, abgesehen von einzelnen gelungenen Züchtungsversuchen, kleinste runde Gebilde gesehen worden, die wir mit dem Erreger der Tollwut identifiziert haben. Auch bei der Schweinepest sind durch Lentz und mich Kulturversuche gelungen; nach einer von unbeteiligter Seite mir gegenüber erfolgten mündlichen Mitteilung soll dem Amerikaner Kingsley neuerdings die Züchtung des Erregers geglückt sein; briefliche Anfrage an hervorragender Stelle in Amerika hat eine Bestätigung nicht gebracht. Healy und Gott haben schon früher in bei auf 37° gehaltenen Gekrösdrüsen-Chamberland-Kerzen-Filtraten Trübungen beobachtet, die durch Klümpchen verursacht waren, in denen bei Giemsa-Färbung kleine Körperchen zu erkennen waren.

Bei der Maul- und Klauenseuche hat v. Betegh 1911 kleine, rundliche oder ovoide Körperchen in der Aphthenlymphe, ferner im Kern der Leukozyten gesehen. Von den ersteren kann mit Bestimmtheit angenommen werden, daß sie den Erreger der Maul- und Klauenseuche darstellen. (Vgl. dazu meine Diskussionsbemerkungen zu den Vorträgen von Titze und Dahmen auf der diesjährigen Mikrobiologentagung, Sonderband dieses Centralblattes; im Erscheinen.) Nach v. Betegh muß der Erreger klein sein, vor allem in einem gewissen Entwicklungsstadium, da er die meisten Filter passiert. Mit Recht hat er darauf hingewiesen, daß er nicht ultramikroskopisch sein kann, denn er wird von dem Kitasato-Filter zurückgehalten. „Er muß bei entsprechend angewandter Färbetechnik morphologisch darstellbar sein ... Wenn wir die neueren Untersuchungen über die mikroskopische Beschaffenheit der Kolloide in Betracht ziehen, dann scheint man die Lehre von den ultravisiblen Lebewesen kaum aufrecht halten zu können. Nach den Untersuchungen von Zsigmondy können Moleküle verschiedener Kolloide genau gesehen und gemessen werden. Die Grenze der Sichtbarkeit wäre 1 $\mu\mu$. Kleinere Kolloid-Moleküle können noch genau bestimmt werden. Es ist höchst unwahrscheinlich, daß so kleine Lebewesen existieren, welche noch kleiner sind, als meßbare Kolloid-Moleküle, von welchen sie sich ernähren. Die Kontradiktion in der Lehre ist evident, wenn man bedenkt, daß Kolloid-Moleküle, welche alle Filter passieren — Kitasato-Filter auch unbedingt — sichtbar und meßbar sind, Mikroorganismen dagegen, welche vom Kitasato-Filter zurückgehalten werden, unsichtbar, also submikroskopisch sind. Nach W. Oswald kann man sogar Kochsalz-Ionen messen, welche 0,26 $\mu\mu$ sind, und Zuckermoleküle 0,7 $\mu\mu$."

Die Befunde, welche Stauffacher nach dieser Seite gemacht hat, haben in der bakteriologischen Fachwissenschaft eine allgemeine

Ablehnung erfahren. Ob dies zu Recht geschehen ist, soll hier nicht erörtert werden. Jedenfalls haben sie in einigen nicht unwesentlichen Punkten eine auffallende Aehnlichkeit mit den v. Betegh-schen. Zweifelhaft muß wohl bleiben, ob die Stellung, die Stauffacher seinem Apthomonas infestans genannten Erreger im System der Mikroorganismen gegeben hat, richtig ist. Jedenfalls wird eine Ueberprüfung seiner Arbeiten in bezug auf neuere Befunde notwendig sein, wobei sich auch die Prüfung der Richtigkeit der Angaben von Stauffacher über die ihm gelungene Kultur des Maul- und Klauenseucheerregers auf dem Nicolleschen Nährböden notwendig machen wird. Die Kritik, die sich namentlich nach der Seite ergangen hat (Knuth), daß die Stauffacherschen Gebilde mit im Blute gesunder Rinder vorkommenden Organismen, ziemlich großen Flagellaten, identisch sind, scheint oberflächlich gewesen zu sein.

Mikroskopisch kleinste Gebilde in den Veränderungen bei Maul- und Klauenseuche sind u. a. auch von Gins, in Kulturen von mir gesehen und beschrieben worden. Namentlich die in feinen Kulturfilamenten eingelagerten schärfer tingierbaren Gebilde von Goerttler und mir sind hierher zu rechnen. Es ist höchst wahrscheinlich, daß sie alle mit den neuerdings von Frosch mit Hilfe der Photographie im ultravioletten Lichte dargestellten Mikroorganismen identisch sind.

Simons hat (Sitzung der Berl. Mikrobiol. Ges. vom 19. 5. 1924 s. Centralbl. f. Bakt. Abt. I Ref. Bd. 77 Nr. 5/6) in bezug auf die von Frosch am 7. 4. des gleichen Jahres mitgeteilten Befunde darauf hingewiesen, daß die Photographie im ultravioletten Licht neben der Unmöglichkeit direkter Scharfeinstellung noch die bedenklichen Nachteile hat, daß an der Gelatine-Glasgrenze der Platte Abbeugungen entstehen können, die das Bild noch unschärfer machen, und daß bei Photographie eines Nativpräparates durch die intensive Wirkung des ultravioletten Lichtes das Protoplasma schnell sehr tiefgreifend geschädigt wird. Man wird beim Studium „ultravisibler" Erreger nach Simons nur durch optische Differenzierung im Hell- oder Dunkelfeld mittellst verbesserter Färbemethodik weiter kommen. Diese Auffassungen dürften nach optisch-fachmännischer Ansicht kaum das Richtige treffen. Sicher ist aber, daß Objekte von 0,1 μ und darunter bei intensiver Färbung und scharfer Beleuchtung auch mit gewöhnlicher Optik erkennbar sind, nur erscheinen diese Gebilde dann als Kugeln. Die Abbesche Auflösungsformel wird von den meisten Mikroskopikern in diesem Punkt mißverstanden.

Simons hebt weiter hervor, daß die relative „Größe" der Erreger Stauffachers nicht weiter verwunderlich sei, da durch die Beizung und Färbung stark quellende und adsorptive Vorgänge im Protoplasma eintreten können. Als Analogon dafür verweist er auf die Bakteriengeißeln, da diese doch auch bedeutend dicker erscheinen, als dies im Leben tatsächlich der Fall ist.

Sicher ist, daß zwischen der Größe der von Frosch photographierten Gebilde und der von Betegh beschriebenen, auch bestimmten Formen des Stauffacherschen „Erregers" kein wesentlicher Unterschied besteht. Frosch gibt seine Gebilde auf 0,1 μ, v. Betegh auf 0,25—0,3 μ an. Dabei muß berücksichtigt werden, daß die Zahlen von Frosch zum Teil sich auf Kulturformen beziehen, während von Betegh reines Aphten-Material untersucht hat.

Wenn im übrigen anläßlich der Darstellung der Erreger der Lungenseuche bzw. der Maul- und Klauenseuche durch die Photographie im u.-v.-Lichte von Schikora gesagt worden ist, daß Frosch es verstanden habe, „zu anderen Zwecken geschaffene wissenschaftliche Werkzeuge zu übersehen und seinen Forschungen dienstbar zu machen", so weise ich darauf hin, daß diese Art der Bakterien- bzw. Hefe-Photographie schon von Köhler, dem Hersteller des Zeißschen Appa-

rates für die Photographie im u. v. Licht, betrieben worden ist (Ztschr. f. wiss. Mikrosk. 1904), und daß nach mündlicher Mitteilung von der gleichen Seite auch Gärtner bereits Bakterien, Sporen etc. auf die gleiche Weise dargestellt hat. Auch Siegel hat nach einer neuerlichen Literaturnotiz schon Gebrauch von ihr gemacht. Frosch hat also bei seiner „Entdeckung" nichts anderes gemacht, als ein Verfahren zur Darstellung von Gebilden angewandt, die von anderen schon mit anderen Hilfsmitteln gesehen und dargestellt worden sind (vgl. v. Betegh und andere). Man braucht dieses Verfahren nicht notwendigerweise.

Ob die Schlüsse, die Frosch und Dahmen aus ihren Befunden bezüglich der Morphologie und Klassifizierung ihres Kulturvirus gezogen haben, richtig sind, ist gleichfalls eine Frage, die noch einer weiteren Prüfung bedarf. Bei der ungeheuren Kleinheit der zur Darstellung gebrachten Gebilde (für die Projektionsvorführungen sind beispielsweise 360000fache Vergrößerungen gebraucht worden) dürfte dieselbe Vorsicht in der Beurteilung der Befunde einstweilen am Platze sein, wie für die Lungenseuche-Befunde von Frosch. Damit soll das Verdienst Froschs nicht geschmälert werden, die Darstellung dieser Organismen mit Hilfe des u. v. Lichtes durch Photographie zuerst in Angriff genommen zu haben. Die Erregerfrage ist dadurch nicht gelöst worden.

Nachdem das Auftreten von Trübungen in sog. Kulturen des Erregers der Maul- und Klauenseuche zuerst durch Grugel beobachtet und dann anscheinend gleichzeitig von Titze, Reinhardt und mir bestätigt worden war, wobei Titze den Standpunkt vertritt, daß seine Trübungen nichts mit den von Grugel beobachteten zu tun haben, ist mir die Züchtung des Erregers in krankmachender Form und hohen Generationsfolgen schon vor 2 Jahren gelungen, (Jahrhundertfeier Deutsch. Naturforsch. u. Aerzte, Leipzig, 1922) während die Titzeschen Kulturen eine Tierpathogenität überhaupt nicht gezeigt haben. Die von Titze erzielten Trübungen waren auch nur durch höchstens 4 Generationen fortzuzüchten. Bezüglich weiterer Einzelheiten meiner Arbeiten sei auf die vorn erwähnten Göttinger Diskussionsbemerkungen verwiesen.

Es kann nach den bisherigen Befunden wohl angenommen werden, daß es sich auch bei Dahmens Kulturen einstweilen noch um Kümmerformen handelt. Diese Auffassung ist besonders nach Bekanntgabe des Dahmenschen Nährbodens am Platze. Er unterscheidet sich prinzipiell von dem ursprünglichen, von Titze (in Gemeinschaft mit Seelemann) benutzten eigentlich nur dadurch, daß Titze flüssige, Dahmen anfangs auch feste Nährböden für die Kultur verwandt hat. Dabei ist er nach dem Prinzip vorgegangen, das für die Kultur der Bakterien von Robert Koch bzw. Prof. Hesse eingeführt und von den Erforschern des Erregers der Lungenseuche vor langen Jahren auf die Kultur desselben angewandt worden ist. „Streicht man auf der Oberfläche eines Serum-Agars ein Tröpfchen peripneumonische Flüssigkeit oder etwas opaleszierende Bouillonkultur aus, so entstehen nach 4—5tägigem Aufenthalt bei 37° Kolonien, die so zart sind, daß sie nur mit der Lupe bei auffallendem Lichte wahrgenommen werden können (Dujardin-Beaumetz, 1913). Nach dieser Seite wird ein Teil der Dahmenschen ersten Ausführungen bzw. der Deutungen eine Redression im Laufe der Zeit oder schon sehr bald erfahren, so z. B. die Behauptung, daß man erst den Erreger von der

Aphthenflüssigkeit unbedingt trennen müsse, um ein Angehen der Kultur zu erzielen. Dagegen sprechen meine Versuche, auch die neuerdings von Guth veröffentlichten, der übrigens auch schon längere Zeit vor den Dahmenschen Ergebnissen mehrfach bis zur 7. Generationsfolge bei Meerschweinchen mit flüssigen Kulturen Erfolge hat auslösen können.

Dabei soll betont werden, daß ein Nährboden, der den Erreger der Maul- und Klauenseuche in voller Pathogenität zur Entwickelung bringt, die erste Vorbedingung für den Nachweis ist, daß der Erreger wirklich gezüchtet worden sei. Aus ätiologischen Gründen muß dies gefordert werden, weil das Ursachen-Problem bei den sog. filtrierbaren Krankheitserregern tatsächlich anders liegen kann als bei den bisher bekannten Bakterien. Wenn wir bei der Kultur des „Erregers" der Maul- und Klauenseuche tatsächlich auf dem Standpunkt stehen geblieben wären, auf dem sich das Problem für den Erreger der Lungenseuche noch heute befindet — bekanntlich gehört die künstliche Erzeugung der Lungenseuche zu den Schwierigkeiten der experimentellen Methodik; man wolle das nicht übersehen, selbst wenn die Erzeugung der Lungenseuche mit vom kranken Tiere direkt stammendem Material auch Schwierigkeiten bereitet. Das mahnt mindestens bezüglich des Lungenseuche-Aetiologie-Komplexes zur Vorsicht —, so würden wir nicht viel weiter gekommen sein als bei der Lungenseuche. Hier ist z. B. an den Stand zu erinnern, auf dem die Titzesche Maul- und Klauenseuche-Virus-Züchtungsversuche stehen geblieben zu sein scheinen. Zwar sind bei der Lungenseuche mit „Kulturen" gute Immunisierungs-Ergebnisse erzielt worden. Eine Ueberprüfung in sachlich ausreichender Weise haben diese Ergebnisse ausländischer Autoren aber in Deutschland noch nicht gefunden. Möglicherweise aber bieten sich für uns mit abgeschwächten Formen, wie sie auch die ersten Dahmenschen Maul- und Klauenseuche-Kulturen nach den Worten von Frosch darstellen, schon ausreichende Immunisierungsmöglichkeiten. Das ist eine Frage, die in der Zukunft zu lösen sein wird und die man als Patentlösung bezeichnen könnte. Für die Herstellung eines hochwertigen Serums an Rindern (oder Pferden) wird man jedenfalls voll virulente Kulturen gebrauchen.

Daß mit den nicht pathogenen A-Formen von mir eine solche Immunisierung in für die Praxis ausreichender Weise nicht möglich ist, muß heute schon als erwiesen angesehen werden. Ich habe mich dazu in dem in diesem Frühjahre erschienenen Lehrbuch der Schweinezucht und Krankheiten von Dettweiler, Müller und mir folgendermaßen über diese wichtige Frage geäußert:

„Die Behandlung mit Kulturlymphe, wie sie Titze und auch Pfeiler vorgenommen haben, wird auch in Zukunft ins Auge zu fassen sein, evtl. auch die mit Immunserum von Rindern oder Schweinen, die mit dem Kulturvirus B von Pfeiler und Goerttler hochgetrieben worden sind. Nach den neuerdings von Pfeiter und Overbosch in Holland ausgeführten Versuchen scheint eine Immunisierung mit der A-Form keinen für praktische Zwecke unter allen Umständen ausreichenden Gewebsschutz (lokale Immunität) zu verleihen. Werden die Tiere nur leichten Ansteckungen ausgesetzt, so ist die Immunität anscheinend hoch genug, um die Allgemeininfektionen zurückweisen, nicht jedoch lokale, stärker wirkende Infektionen. Die Versuche von Pfeiler und Overbosch in der Praxis decken sich nach dieser Seite mit den Laboratoriumsexperimenten von Titze, die dieser allerdings optimistischer beurteilt hat. Der Weg für die Zukunft dürfte in der Erhöhung der Immunität bei mit der A-Form gespritzten Tieren durch Injektion der B-Form bestehen."

Daß meine früheren Auffassungen über die Immunität bei Maul- und Klauenseuche richtig gewesen sind, hat gerade Titze in neuerer Zeit indirekt anerkannt, indem er sagte, daß wir „seit dem letzten besonders gefährlichen Seuchengang (1919—1921) über die Immunitätsverhältnisse bei der Maul- und Klauenseuche genau unterrichtet sind und deshalb ziemlich übersehen, was wir mit der aktiven Immunisierung erreichen können". Auch die auf den Versuchen von Hecker aufgebauten Meerschweinversuche von Waldmann und Pape, die sich so außerordentlich fruchtbringend für die ganze Forschungsarbeit erwiesen haben, haben die Richtigkeit meiner alten, behördlicherseits darnieder gehaltenen Auffassungen über die Frage der Immunität bei Maul- und Klauenseuche (Was lehrt uns der Gang der Maul- und Klauenseuche während des Weltkrieges? Berl. Tierärztl. Woch. 1918. S. 434) bewiesen, als sie auch an anderer Stelle zur Prüfung der betreffenden Verhältnisse aufgenommen wurden (Ernst, Waldmann u. a.). Gerade die Frosch-Dahmenschen Arbeiten beweisen, daß die freie, von den Behörden unbehinderte Forschung Erfolge zeitigt, wobei darauf hingewiesen werden muß, daß Einzelnes aus den „Arbeits-Hypothesen" Dahmens, die als so grundlegend geschildert worden sind, schon von Titze (und, wie nebenbei bemerkt werden soll, auch von anderen) vorgedacht und veröffentlicht worden ist.

Ich lasse in dieser Beziehung Titze sprechen: „Unter Berücksichtigung der schnellen Abnahme der Virulenz des Erregers in beliebigen Flüssigkeiten bei + 37° Celsius wäre daran zu denken, daß sich bei dieser sonst günstigen Temperatur eine Art von spezifischen Bakteriophagen bildet. Auf die gegenseitige Einwirkung von Virus und Bakteriophagen könnte die Bildung der Stoffe zurückzuführen sein, die nach ihrer Einspritzung bei empfänglichen Tieren immunisatorische Wirkungen auslösen . . . . . Bewahrt man die eine Hälfte des Filtrates im Brutschrank bei 37° C auf und die andere im Kühlschrank bei ca. + 12°, so erweist sich die bei 37° aufbewahrte Verdünnung etwa von der 20. bis 40. Std. an als nicht mehr virulent, während die bei + 12° aufbewahrte Verdünnung mehrere Tage länger (3—5 Tage) virulent bleibt . . . . Es ist nun gleichgültig, mit welcher an und für sich wenig schädigenden keimfreien Flüssigkeit man steril gewonnene Aphthenlymphe verdünnt, immer wieder schädigt die Haltung bei + 37° die Virulenz und vernichtet sie in durchschnittlich 30 Stunden, während bei Aufbewahrung bei + 12° und weniger die Virulenz 3 bis 5 Tage lang und länger erhalten bleibt." Immerhin wird die Art, wie die neuen Befunde von Frosch und Dahmen der breiteren Oeffentlichkeit übermittelt worden sind, zweifellos das Gute nach sich ziehen, daß nunmehr die Aufmerksamkeit auch breiterer Fachkreise auf Arbeitsgebiete erneut hingelenkt worden ist, bezüglich deren ein gewisser Arbeitspessimismus bestand, nicht nur ein Pessimismus, sondern eine z. T. durchaus unberechtigte Skepsis, die die Ergebnisse stiller Arbeit der letzten Jahre kritisieren bzw. übersehen zu dürfen glaubte.

Es wäre wichtig, wenn sich unsere Behörden in der vollen Erkenntnis der Schwierigkeit der noch zu lösenden Aufgaben entschließen würden den bisherigen Forschungsstellen Mittel für diese Zwecke zur Verfügung zu stellen. Je mehr Stellen an dieser Frage arbeiten, um so wertvoller dürfte dies für die Erreichung der gesteckten Ziele sein. Nachdem meine eigenen Versuche seit über Jahresfrist brach liegen müssen, seit dem Herbst 1922 behindert worden sind, wäre eine Unterstützung seitens der Behörden um so angebrachter, um die unter recht verschiedenen Arbeitsbedingungen von Frosch und Dahmen erzielten und meine Ergebnisse zu weiterer fruchtbarer Auswirkung zu bringen.

Nachdruck verboten.

Untersuchungen über die aërobe Züchtung der obligaten anaëroben Bakterien.

[Aus der II. med. Univ.-Klinik in Wien (Vorstand Prof. Dr. N. Ortner).]

Von **Nikolaus Kovács.**

Die Entwicklung der flüssigen Anaërobennährböden tendiert nach der Richtung der Kultivierung ohne Luftabschluß. Tizzoni, Cattani und Baquis (9) gelang es als ersten, obligate Anaëroben unter Luftzutritt zu züchten. Sie kultivierten Tetanusbazillen in geronnenem Kaninchenblut, ohne den Einfluß der Luft auszuschalten. Später berichtete Smith (6) über Züchtung von Tetanus-, Rauschbrand- und malignem Oedembazillen in Bouillon, in welcher Stücke von Leber, Milz oder Niere versenkt waren. Kedrowsky (3) züchtete Anaërobe in gewöhnlicher und in Zuckerbouillon mit abgetöteten aëroben Bakterien. Kitt (4) konnte Rauschbrandbazillen in gewöhnlicher Bouillon züchten, indem er die in größeren Kolben befindliche Bouillon mit mehreren Kubikzentimetern einer Kultur impfte; später auch in Bouillon mit sterilisierten Fleischstücken und in Blutbouillon. Hibler (2) kultivierte Tetanus-, Rauschbrand- und malignes Oedembazillen in sterilisiertem Kaninchenblut, ebenso in Hirnbrei. Im Jahre 1905 berichtete Tarozzi (8) unabhängig von seinen Vorgängern über aërobe Züchtung in Bouillon, in welcher sich sterile Organstücke befanden. Sein Verdienst war es, daß die Aufmerksamkeit auf diesen in Vergessenheit geratenen Nährboden gelenkt wurde. Die Frage war nur, ob es, wie Tarozzi meinte, notwendig sei, frische sterile Gewebsstücke zur Züchtung zu verwenden, oder aber, ob es möglich wäre, mit sterilisierten Organstücken gleiche Resultate zu erreichen. Wrzosek (11) zeigte, daß auch alte, sogar der Fäulnis anheimgefallene Organstücke verwendbar sind und daß diese auch in Autoklaven beliebig lang sterilisierbar sind. Ebenso zeigte er, daß Organstücke, einer Temperatur von 140 bis 150 Grad, bis zur teilweisen Verkohlung, ausgesetzt, ihre Eigenschaft, das Wachstum der Anaëroben zu begünstigen, nicht einbüßten. Nachdem er diese reduzierende Substanz in dem getrockneten Gewebe gefunden hatte, stellte er Versuche mit Holzkohle, Steinkohle und Koks, sogar mit Kreide, Zink und Eisen an; das Wachstum war aber geringer, als bei Verwendung von Organstücken. Der Beweis der Hitzebeständigkeit der Organstücke bedeutete einen großen Fortschritt in der Geschichte der Anaërobenzüchtung. Es war ein Nährboden gefunden, welcher beliebig lange vorrätig gehalten werden konnte und unbegrenzt sterilisierbar war.

Von anderen Anaërobennährböden muß man wohl noch die Pfuhlsche Bouillon, die Martinsche Bouillon, die „abgebaute" Bouillon nach Würcker, die Kartoffelbouillon und die sterile Milch erwähnen, doch gelangten alle diese Nährböden gegenüber der Leber-Leberbouillon und dem Gehirnbrei nicht zur allgemeinen Verwen-

dung; höchstens einzelne von ihnen konnten in Betracht kommen, so z. B. die Milch als Differentialnährboden, oder die „abgebaute" Bouillon zur Züchtung des B. postumus (12).

Gelegentlich meiner Untersuchungen über den Dimethyl-p-phenylendiaminnährboden[1]) stellte ich mir die Frage, wie weit die organischen und anorganischen Reduktionsmittel für die aërobe Züchtung der anaëroben Bakterien ausgenützt werden konnten, und weiter, welche Stoffe für den Assimilationsprozeß der Anaëroben die optimalsten Bedingungen geben würden. Ueber die gebräuchlichen Reduktionsmittel berichtete ich in meiner erwähnten Arbeit. Praktisch kam nur das Dimethyl-p-phenylendiamin, der Traubenzucker, das indigschwefelsaure und ameisensaure Natrium in Betracht.

Meine jetzigen Untersuchungen beziehen sich auf die Züchtung der obligaten Anaëroben in flüssigen Nährböden ohne Luftabschluß. Es galt, einen der Leber-Leberbouillon, als dem heute gebräuchlichsten flüssigen Anaërobennährböden, gleichwertigen oder, wenn möglich, einen diesen übertreffenden Nährboden herzustellen. Die Untersuchungen stellte ich mit den erwähnten 4 Reduktionsmitteln, zuerst in gewöhnlicher Bouillon an. Da aber die Anaëroben mit den erwähnten Reduktionsmitteln in gewöhnlicher Bouillon ohne Luftabschluß nicht wuchsen, glaubte ich, durch Steigerung des Eiweißgehaltes der Bouillon bessere Wachstumsbedingungen herstellen zu können, nachdem das organisierte Eiweiß, so die Organstücke, Muskel, Blut, für die Anaëroben die bisher besten Stoffwechselbedingungen darstellen. Als geeignetes Eiweiß kam das Pepton in Betracht, und zwar das als Peptonum siccum Witte in den Handel kommende Pepton, nachdem das andere, jetzt allgemein zugängliche Pepton, das Merck'sche, viel schlechtere Züchtungsresultate gab. Mit französischen Präparaten konnte ich bisher keine Versuche anstellen. Ich konnte im allgemeinen Bakterien der Gasödemgruppe in einer 10proz. Peptonbouillon mit einem Reduktionsmittelzusatz mit dem gleichen Effekt züchten, wie in einer 25proz. Serumbouillon — in der üblichen 1:3-Verdünnung — mit dem gleichen Reduktionsmittelzusatz. Die Verwendung von Peptonbouillon hat nun gegenüber der von Serumbouillon sowohl den großen Vorteil der Billigkeit, als auch den der unbegrenzten Sterilisierbarkeit.

Das Pepton war schon von Lorenti (5) als eine 20proz. Peptonbouillon aus Witte-Pepton zur Anaërobenzüchtung angegeben worden. Ich kann jedoch seine Ergebnisse nicht bestätigen, da es mir, trotzdem ich das Pepton aus den verschiedensten Quellen bezog, nicht gelang, eine 20proz. Witte-Peptonlösung herzustellen. Bei der Lösung des Peptons hatte ich die von Heim (1) angegebene Methode im Auge, doch wurde es schon bei einer Konzentration von über 10—12 Proz. schwierig, wahre Lösungen und nicht etwa Suspensionen herzustellen. Weder in einer Bouillon mit 20 Proz. Merckschem Pepton, welches sich auch in dieser Konzentration löste, noch in der gesättigten Witte-Peptonbouillon konnte ich mit einem meiner Stämme eine Vermehrung nachweisen. Auch sonst hat, soweit ich die Literatur überblicke, die Methode keine Verbreitung gefunden. Eine andere Verwendung zur Anaërobenzüchtung fand die Peptonbouillon bei Kultivierung aus dem

1) Siehe diese Zeitschrift. Abt. I. Orig. Bd. 92. S. 315.

Blute nach Schottmüller (7), doch spielt hier wohl das Blut als Nährboden die Hauptrolle.

Ich verwendete zu meinen Versuchen eine 10-proz. — diese Konzentration erwies sich als die geeigneteste — Peptonbouillon (Witte) in Kombination mit den erwähnten Reduktionsmitteln. Ich konnte in einer 10-proz. Peptonbouillon mit Zusatz von 0,1 $^0/_{00}$ Dimethyl-p-phenylendiamin bzw. von 0,05—0,1 Proz. indigschwefelsaurem Natrium oder 2 Proz. Traubenzucker, die mir zur Verfügung stehenden Stämme[1]) des B. phlegmonis emphysematosae, B. oedematis malign. und des B. sarcoemphysematos züchten. Bei Zusatz von ameisensaurem Natrium konnte ich kein Wachstum nachweisen. Die besten Züchtungsresultate bekam ich mit Traubenzucker, wenn auch die anderen zwei Nährböden nach 24 Std. ein makroskopisch sichtbares Wachstum zeigten. Der Züchtungseffekt der Traubenzucker-Peptonbouillon erwies sich dem der Leber-Leberbouillon gleichwertig. Nach 24 Std. zeigten die erwähnten Stämme deutliche Trübung und dichten Bodensatz (siehe Tabelle). Die Züchtung in diesem Nährboden besitzt gegenüber dem in Leber-Leberbouillon mit Rücksicht auf die Einfachheit des Nährbodens große Vorteile. Ich verwendete die Nährböden immer in wenigstens 7—8 cm hoher Schicht ohne Luftabschluß und vertrieb die Luft, wie es auch bei der Organbouillon üblich ist, vor dem Gebrauch durch Kochen. Die Beimpfung des Nährbodens geschieht abweichend von der Beimpfung der Bouillon, die zur aëroben Züchtung verwendet wird, durch Abstreifen des Oesen-inhaltes an dem untersten Teil der Eprouvettenwand. Auf die gleiche Weise, wie die erwähnten Bakterien der Gasödemgruppe, konnte ich auch B. tetani, B. botulinus, B. amylobacter und B. putrificus Bienstock mit dem gleichen Erfolge in der Traubenzucker-Peptonbouillon kultivieren. Trotz der ausgezeichneten Züchtungsresultate, die bei vielen Stämmen die Resultate der Leber-Leberbouillon übertreffen, glaube ich betonen zu müssen, daß ich vorläufig noch keine Gelegenheit hatte, mit frisch gezüchteten Stämmen aus Menschen- oder Tierkörper, die gewöhnlich höhere Anforderungen an die Nährböden stellen als ältere Laboratoriumskulturen, Versuche anzustellen.

Weitere Versuche stellte ich mit Züchtungen in Kombination von Traubenzuckerbouillon mit Dimethyl-p-phenyldiamin, indigschwefelsaurem und ameisensaurem Natrium an. Die Kombination der ersteren versagte; in Indigokarmin-Traubenzuckerbouillon bzw. ameisensaurer Natrium-Traubenzuckerbouillon konnte ich jedoch mit den erwähnten Stämmen der Gasödemgruppe von 24 Std. an eine Trübung und in 48 Std. Bodensatz erzielen.

Ferner stellte ich Versuche mit 15-proz. Gelatinenährböden an, und zwar mit Zusatz von Traubenzucker allein bzw. mit Zusatz von Traubenzucker und 10 Proz. Pepton. Die Züchtungsversuche mit einfacher Peptongelatine gaben negative Ergebnisse. Ich möchte hervorheben, daß die meisten Anaëroben in Traubenzuckergelatine bei 37° — ohne Luftabschluß — gut wachsen, und daß es nicht unbedingt notwendig ist, die Einwirkung des Luftsauerstoffes, sei es durch Ueberschichtung der

---

1) Dem Serotherapeutischen Institut und dem Král-Museum, die mir in liebenswürdiger Weise die Stämme zur Verfügung gestellt haben, erlaube ich mir an dieser Stelle bestens zu danken.

Gelatine, sei es, nach der Angabe von Zeißler (13), durch Bebrütung in Exsikkatoren unter Vakuum mit Pyrogallol-Kalilauge, zu eliminieren. Der Peptonzusatz begünstigt ebenso wie in der Bouillon das Anaërobenwachstum, so daß ich in einer 10-proz. Peptongelatine mit Zusatz von 2 Proz. Traubenzucker mit dem gleichen Effekt als wie in Leber-Leberbouillon züchten konnte. Der Peptonzusatz beeinflußt nicht das Verflüssigungsvermögen der Anaëroben, und ich benützte die Pepton-Traubenzuckergelatine unter aëroben Bedingungen mit gutem Erfolge als Differentialnährboden der Gelatineverflüssigung, um so eher, als in diesen Nährböden die meisten Bakterien schon von 24 Std. angefangen mit Bodensatz wachsen, im Gegensatz zur gewöhnlichen Traubenzuckergelatine, in welcher erst nach 48 Std. deutliches Wachstum eintritt (siehe Tabelle). Zur Prüfung der Leimpeptonifizierung wird die Gelatine nach der Bebrütung, wie es Zeißler (13) angibt, unterkühlt. Es ist jedoch notwendig, dieselbe wenigstens 10 Min. lang im fließenden Leitungswasser — also bei 10—14° — zu halten, bevor man ein Urteil über das Verflüssigungsvermögen der zu untersuchenden Bakterienart aussprechen kann.

Die Benützung des Traubenzuckers in den Anaërobennährböden hat zwar gewisse Nachteile; ich verweise diesbezüglich auf meine zitierte Arbeit. Trotzdem soll betont werden, daß der Traubenzucker, als einer der bestbewährten Nährstoffe für die Assimilation der Anaëroben, in allen Fällen, wo die nicht zu lange Züchtungsdauer die Bildung von organischen Säuren nicht zuläßt, eines der wertvollsten Züchtungsmittel für die Anaëroben darstellt.

An die bisherigen Versuche schloß ich noch solche mit Tierkohle an. Wrzosek (11) und Würcker (12) berichteten über Versuche mit letzterer. Sie konnten zwar die meisten Anaëroben mit Tierkohle züchten, doch hatten sie im allgemeinen schlechte Resultate. Nach den grundlegenden Arbeiten Wiechowskis (10) wissen wir, daß die Tierkohle eines der besten Reduktionsmittel ist, so daß ich es für zweckmäßig hielt, Versuche unter anderen Versuchsbedingungen, als die der vorher erwähnten, anzustellen. Um die für meine Arbeiten wichtigen Ergebnisse Wiechowskis zu rekapitulieren: Die Tierkohle ist eines der besten physikalischen Reduktionsmittel; die verschiedenen Tierkohlearten haben verschiedenes Reduktionsvermögen — so reduziert die Mercksche Tierkohle viel besser als die anderen Kohlenarten —; die Tierkohle hat die Eigenschaft, die Bakterien in hohem Maße zu adsorbieren. Ich wich in meinen Versuchen von denen Wrzosek und Würckers insoweit ab, als ich die Tierkohle bei der Beimpfung in Suspension und nicht als Sediment in dem flüssigen Nährboden benützte, von der Vorstellung ausgehend, daß durch die Adsorption und nachfolgende Sedimentierung der Tierkohle alle Bakterien, die zu der Beimpfung verwendet wurden, in jene Sauerstofftension gelangen, die ihre Vermehrung ermöglicht, dadurch würde die Ueberimpfbarkeit von sehr empfindlichen Anaëroben, auch wenn sehr wenig Keime zur Beimpfung verwendet wurden, gesichert. Ich verwendete ferner als Nährboden nicht gewöhnliche Bouillon, nachdem diese an sich für die Anaëroben, auch unter Luftabschluß, einen ganz unzulänglichen Nährboden bildet. Das Prinzip meiner Versuche war, das optimalste physikalische Reduktionsmittel — die Metalle schieden wegen der oligodynamischen Wirkung aus — mit einem für

das Anaërobewachstum sehr guten Nährböden zu vereinigen. Nachdem ich in Peptonbouillon, aber besonders in Traubenzuckerbouillon mit Zusatz von 0,3 Proz. Tierkohle (aus Carbo animal. pur. Merck), also meine Stämme mit gutem Erfolge züchten konnte (siehe Tabelle), setzte ich zu Traubenzucker-Peptonbouillon und ebenso zu Traubenzucker-Peptongelatine Tierkohle zu, und mit diesen Nährboden konnte ich alte Stämme, die in Leber-Leberbouillon nicht mehr überimpfbar waren, weiter züchten. So gelang es mir, aus einer alten

Tabelle.

B. sarcoemphysematos.

Nährboden	Wachstum nach 24 Std.	Wachstum nach 48 Std.
2-proz. Traubenzuckerbouillon mit 0,1 Proz. indigschwefelsauerem Natrium	+	++
2-proz. Traubenzuckerbouillon mit 0,3 Proz. ameisensauerem Natrium	+	++
2-proz. Traubenzuckerbouillon mit 0,1 Prom. Dimethyl-p-phenylendiamin	—	—
10-proz. Peptonbouillon mit 0,1 Proz. indigschwefelsauerem Natrium	+	++
10-proz. Peptonbouillon mit 0,3 Proz. ameisensauerem Natrium	—	—
10-proz. Peptonbouillon mit 0,1 Prom. Dimethyl-p-phenylendiamin	+	++
10-proz. Peptonbouillon mit 2 Proz. Traubenzucker	++	+++
10-proz. Peptongelatine mit 2 Proz. Traubenzucker	++	+++
2-proz. Traubenzuckerbouillon mit 0,3 Proz. Tierkohle	++	+++
Leber-Leberbouillon	++	+++

— bedeutet ausgebliebenes, + spärliches, ++ deutliches, +++ üppiges Wachstum.

Leber-Leberbouillon von B. tetani und aus ebensolchen des B. amylobacter in Tierkohle-Traubenzucker-Peptonbouillon bzw. -Gelatine die Stämme weiter zu kultivieren. Ueberhaupt ist es zweckmäßig, bei Versuchen zur Herstellung von Differentialnährböden zur Anaërobenzüchtung diese mit Tierkohle zu kombinieren, nachdem durch diese chemisch indifferente Substanz die Nährböden in ihrer Zusammensetzung nicht verändert werden und andererseits doch eine aërobe Züchtung ermöglicht wird. Die Menge der Tierkohle ist so gewählt, daß diese nach dem Aufwirbeln ungefähr nach 6 Std. vollständig sedimentiert ist, so daß eine eventuelle Trübung durch Bakterienwachstum merkbar wird. Das Aufwirbeln kann durch die impfende Oese nach vorherigem Aufkochen im Wasserbade zur Vertreibung der Luft geschehen. Eine bessere Methode ist es aber, die Eprouvetten mit dem Nährboden über die Sparflamme des Bunsenbrenners zu halten, wodurch die an dem Boden der Eprouvetten liegende Tierkohle aufgetrieben wird. Es ist zweckmäßig, die aus dem Wasserbade, wo das Kochen des Nährbodens nur zur Luftaustreibung, nicht aber zum Aufwirbeln genügt, herausgenommenen Nährböden noch heiß über die Sparflamme zu halten. Dies ist bei den Gelatinenährböden notwendig, bei Bouillon kann man ohne Gefahr der Sprengung der Eprouvetten auch den kalten Nährboden aufwirbeln. Kochen über der offenen Flamme erweist sich nicht als

zweckmäßig. Vor der Beimpfung muß der Nährboden schnell abgekühlt werden. Zu der Zubereitung des Nährbodens soll man Tierkohle im Trockensterilisator wenigstens eine halbe Stunde lang bei 150° halten, nachdem diese, wie überhaupt Pulver häufig, B. mesentericus vulgaris oder andere sporenbildende Bakterien enthält.

Zusammenfassung.

A. Das Pepton ist ein sehr wertvolles Nährsubstrat zur Züchtung von Anaëroben. Es gelingt, in Kombination von 2 Proz. Traubenzucker mit 10-proz. Peptonbouillon oder 10-proz. Peptongelatine unter aëroben Bedingungen mit gutem Erfolge obligate anaërobe Bakterien zu züchten.

B. Zum Nachweis der Gelatineverflüssigung empfiehlt sich die Benutzung der Traubenzucker-Peptongelatine.

C. Die Tierkohle stellt in speziellen Fällen ein die anderen Anaërobennährböden übertreffendes Züchtungsmittel dar.

Literatur.

1) Heim, Lehrb. d. Bakt. Stuttgart (Enke) 1918. — 2) Hiebler, Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 25. S. 603. — 4) Kedrowsky, Ztschr. f. Hyg. Bd. 20. S. 358. — 4) Kitt, Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. 17. S. 168. — 5) Lorenti, ebenda Abt. I. Ref. Bd. 61. S. 479. — 6) Smith, ebenda, Orig. Bd. 7. S. 502. — 7) Schottmüller, Leitf. d. klin. bakt. Kulturmeth. Berlin-Wien (Urban und Schwarzenberg) 1922. — 8) Tarozzi, Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 38. S. 619. — 9) Tizzoni, Cattani u. Baquis, Zieglers Beitr. Bd. 7. S. 596. — 10) Wiechowsky, Fortschr. d. Med. 1910. S. 400. — Kongr. f. inn. Med. Wiesbaden, 1914. — Therapie d. Gegenwart, 1922. S. 1. — 11) Wrzosek, Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 43. S. 17 und 44. S. 607. — 12) Würcker, Sitzungsber. der physik.-med. Soc. in Erlangen, Bd. 41. — 13) Zeißler, Die Technik d. Anaërobenzüchtung in Kraus-Uhlenhuths Handb. d. mikrob. Technik, Berlin-Wien 1923. S. 961.

Berichtigung.

In der Arbeit von Richard Prigge „Ueber den Toxongehalt des Diphtheriegifts“ in Bd. 92, Heft 1/2 ist ein Rechenfehler unterlaufen. Von der letzten Zeile unten auf S. 39 bis zur 10. Zeile oben auf S. 40 muß es, wie folgt, heißen:

Vermehrt man diejenige Giftdosis, mit der man eine AE. so absättigen kann, daß alle 200 Bindungseinheiten mit Toxin-Toxoid besetzt sind und nur Toxon freibleibt ($\alpha + \beta$; ein Wert, der mit Ln bezeichnet werden möge), um 1 d. l., im vorliegenden Beispiel also um etwas weniger als 5 Bindungseinheiten (5 Bindungseinheiten = $1^1/_{20}$ d. l.), so bleibt nach Zusatz einer AE. keineswegs 1 d. l. frei. Die nachträglich zugefügte Giftmenge von 1 d. l. besteht zur Hälfte (= ca. $2^1/_2$ Bindungseinheiten) aus Toxon, zur andern Hälfte aus Toxin-Toxoid, und zwar aus ca. 2 Bindungseinheiten Hemitoxin und ca $^1/_2$ Bindungseinheit $^1/_{10}$ Tritotoxin. Die ursprünglich in Ln enthaltenen 200 Bindungseinheiten Toxin-Toxoid

(160 Einheiten Hemitoxin + 40 Einheiten $^1/_{10}$ Tritotoxin) werden also um ca. $2^1/_2$ Bindungseinheiten Toxin-Toxoid vermehrt. Da zunächst die avideren Partieen des Giftes (das Hemitoxin) abgesättigt werden, so werden nach Zusatz von 1 AE. ca. 162 Einheiten Hemitoxin und ca. 38 Einheiten $^1/_{10}$ Tritotoxin gebunden und es bleibt nicht 1 d. l., sondern lediglich etwas weniger als $2^1/_2$ Bindungseinheiten $^1/_{10}$ Tritotoxin, also nicht ganz $^1/_4$ d. l. frei. Erst nach Zusatz von 20 Bindungseinheiten Gift (10 Bindungseinheiten Toxon und 10 Bindungseinheiten Toxin-Toxoid) = 4 $^1/_5$ d. l. bleibt 1 d. l. (10 Bindungseinheiten Tritotoxin) frei, wenn man zu der gesamten Giftmenge 1 AE fügt. β ist somit = d—4 $^1/_5$, nicht = d—1 (Fig. 1).

Aufnahmebedingungen für das Centralblatt für Bakteriologie, Parasitenkunde und Infektionskrankheiten.

Die Manuskripte müssen **druckfertig** eingesandt werden. Notwendig werdende Umarbeitungen und Korrekturen können auf Wunsch durch die Redaktion gegen entsprechende Vergütung besorgt werden.

Arbeiten, welche den Umfang von $2^1/_2$ bis 3 Druckbogen überschreiten, müssen vorläufig von der Aufnahme ausgeschlossen werden, falls die Verff. die Herstellungskosten für den obige Bogenzahl übersteigenden Text nicht zu tragen bereit sind. Auch können **Tafeln, Textfiguren, Kurven, Tabellen** usw. nur in beschränkter Anzahl beigegeben werden. Weitergehende Wünsche können nur Berücksichtigung finden, wenn die über das vorgesehene Maß hinausgehenden Herstellungskosten von den Verfassern getragen werden. Für **zurückverlangte Manuskripte** ist das zur Rücksendung nötige Porto an die Redaktion vorher einzusenden.

Inhalt.

Anselmi, Diego, Untersuchungen über die Variabilität des Bacterium coli, S. 518.

Battaglia, Mario, Ueber Infektion mit einigen menschlichen und tierischen Protozoen, S. 540.

Beger, H., Ueber das unterschiedliche Verhalten mehrerer mit dem gleichen Antigen bei verschiedenen Tierarten hergestellter Typhus- und Gärtner-Immunsera beim Absättigungsversuch nach Castellani, S. 481.

Bumke, E., Ein Beitrag zur Bakteriologie und Klinik des Paratyphus A. Mit 5 Abbildungen im Text, S. 500.

Czickeli, Hermann, Biologisches über den Erreger der Coli-Pyelo-Cystitis. 2. Mitteilung: Tierversuche, S. 527.

Joós, Jlona v., Beiträge zur diagnostischen Bewertung der Weil-Felix-Reaktion, S. 532.

Klaften, E., Zur Frage der Verwertbarkeit der Gruber-Widalschen Reaktion bei fieberhaften Erkrankungen, mit besonderer Berücksichtigung des Paratyphus B, S. 490.

Klopstock Felix, Serum-Farbstoffphänomene, S. 572.

Koose, Werner, Zur Frage der Agglutination von Pseudoruhrbazillen durch Schwangerenseren. Mit 7 Kurven im Text, S. 546.

Kovács, Nikolaus, Untersuchungen über die aërobe Züchtung der obligaten anaëroben Bakterien, S. 580.

Nitzulescu, Virgil, Ueber das häufige Vorkommen des Trichocephalus trichiurus in Rumänien, S. 542.

Pfeiler, W., Einiges über filtrierbare Virusarten und das „Kulturvirus" der Maul- und Klauenseuche, S. 574.

Prigge, Richard, Berichtigung, S. 585.

Reiter, Hans, Beitrag zur Frage der Wiederinfektion bei experimenteller Kaninchensyphilis, S. 534.

Frommannsche Buchdruckerei (Hermann Pohle) in Jena.

589.05
CE
Serza
v. 92
NHL

Inhaltsverzeichnis.

I. Verzeichnis der in Band 92 enthaltenen Arbeiten.

Acél, D. u. **Acel-Vescei, Anna,** Ueber die „physiologische" Agglutination des Y-Dysenteriebazillus. 363

Acél, Vescei, Anna s. **Acél, D.**

Anselmi, Diego, Untersuchungen über die Variabilität des Bacterium coli. 518

Barikin, W., u. **Zacharoff, A.,** Die Epidemiologie der gegenwärtigen Cholera in Rußland. 201

Barnewitz, J., u. **Flecke, Heinrich,** Vergleichende Untersuchungen über den Stoffwechsel von Bacterium coli und typhi, mit besonderer Berücksichtigung des Endoschen Nährbodens. 359

Battaglia, Mario, Ueber Infektion mit einigen menschlichen und tierischen Protozoen. 546

Beck, A., u. **Huck, W.,** Beitrag zu den „Coli-Typhus"-Erkrankungen der Haustiere. 397

Beger, H., Beobachtungen über herabgesetzte Haltbarkeit präzipitierender Antisera. 308

— —, Ueber das unterschiedliche Verhalten mehrerer, mit dem gleichen Antigen bei verschiedenen Tierarten hergestellter Typhus- und Gärtner-Immunsera beim Absättigungsversuch nach Castellani. 481

Bergin, E., Untersuchungen über Chloramin-Heyden. 465

Braun, H., u. **Nodake, R.,** Ueber die Rolle des Ekto- und Endoplasmas der Bakterien für die Serumbakterizidie und für die Phagozytose. 429

Brekenfeld, Zur Technik der Anaërobenzüchtung. Einmachegläser als Exsikkatoren zur Anaërobenzüchtung. 129

Bumke, E., Ein Beitrag zur Bakteriologie und Klinik des Paratyphus A. 500

Czickeli, Hermann, Biologisches über den Erreger der Coli-Pyelo-Cystitis. 527

Danisch, F., Balantidiencolitis kombiniert mit Typhus abdominalis. Bemerkungen zur Biologie und pathogenen Bedeutung des Balantidium coli. 104

Engering, P., Ueber Variationserscheinungen in der Typhus-Coli-Gruppe. 1

Epstein, H., Beitrag zur zytologischen Diagnose der Lyssa. 71

—. Weiterer Beitrag zur Blut- und Blutprotozoenfärbung (Toluidinblau-Eosin). 148

Flecke, Heinrich s. **Barnewitz, J.**

Galli-Valerio, B., Beobachtungen über Culiciden nebst Bemerkungen über Tabaniden und Simuliden. 101

Gerlach, F., Geflügelspirochätose in Oesterreich. 84

Gersbach, Alfons, Ueber kleine Bazillen und kleinste Kolonien aus Wasser, Bacillus balnearius. 194

Grassi, B., Nach fünfundzwanzig Jahren. Chronologische Uebersicht der Entdeckung der menschlichen Malariaübertragung. 392

Groetschel, Negative Eijkmansche Probe bei positivem Colibefund im Wasser. 470

Gutfeld, Fritz v., Die Eignung verschiedener Peptonpräparate für bestimmte bakteriologische Zwecke. 143

Manninger, R., Beitrag zur Aetiologie und Prophylaxe des Rauschbrandes und des malignen Oedems der Wiederkäuer. 418

Meißner, Gertrud, Versuche über die Flüchtigkeit und Kochbeständigkeit des d'Herelleschen Bakteriophagen. 424

Mizuhara, H., Ueber den Einfluß der Paratyphaceen auf die Milchzuckervergärung durch B. coli. 20

Hage, Nachwirkungen der Typhusschutzimpfung im Kriege. 9

Huck, W. s. **Beck, A.**

Ikoma, Torahiko, Die Bedeutung der Reaktion für Gonokokkennährböden (Zitronensäurenährböden). 61

Jacobitz, E., Bakterienagglutination in Zuckerlösungen (biologische Säureagglutination). 443

Joós, Ilona v., Beiträge zur diagnostischen Bewertung der Weil-Felix-Reaktion. 532

Kabelík, J., u. **Rosenzwelg, Walter,** Versuche zur Unterscheidung der Bakterien aus der Typhus-Coli-Gruppe durch Färbung. 197

Karmann, P., Ein neues binokulares Plattenkulturmikroskop. 475

Kimura, K., Zur Artbestimmung der Putrificus-Bazillen. 342

Klaften, E., Zur Frage der Verwertbarkeit der Gruber-Widalschen Reaktion bei fieberhaften Erkrankungen, mit besonderer Berücksichtigung des Paratyphus B. 490

Klopstock, Felix, Serum-Farbstoffphänomene. 572

Klutscharew, W. s. **Patzewitsch, B.**

Knorr, M., Das „neue" anaërobe Plattenverfahren von O. Saphir. Entgegnung zum Aufsatz Saphirs in diesem Centralblatt. Bd. 91. 159

Knorr, M., Untersuchungen über den Erreger der ägyptischen Augenentzündung (Koch-Weekssches Bakterium) und seine Beziehungen zum Pfeifferschen Influenzabazillus. I. Mitt. 371
— —, Untersuchungen über den Erreger der ägyptischen Augenentzündung (Koch-Weekssches Bakterium) und seine Beziehungen zum Pfeifferschen Influenzabazillus. II. Mitt. 385
Kohno, S., Ueber das Verhalten der viruliziden Antikörper im Blute des revakzinierten Kaninchens. 137
Koose, Werner, Zur Frage der Agglutination von Pseudoruhrbazillen durch Schwangerenseren. 546
Kovács, Nicolaus, Ueber einen Dimethyl-p-phenyldiaminnährboden zur Züchtung anaërober Bakterien und über das Verhalten einiger Aëroben auf diesem Nährboden. I. Mitteilung. 315
— —, Untersuchungen über die aërobe Züchtung der obligaten anaëroben Bakterien. 580
Krantz, Walther, Ueber feste und flüssige Nährböden zur Kultivierung der Spirochaeta pallida. 216
Kritschewsky, J. L., Zur Auffassung des anaphylaktischen Shocks als eines physikalisch-chemischen Phänomens. Begründung der Metaballodispersttheorie. 277
Küstner, Heinz, Studien über die Ueberempfindlichkeit 428
Nitzulescu, Virgil, Ueber das häufige Vorkommen des Trichocephalus trichiurus in Rumänien. 542
Nodake, R. s. **Braun, H.**
Oerskov, J., Ueber Bakterienreinzüchtung. 312
Patzewitsch, B., u. **Klutscharew, W.,** Meningitis cerebrospinalis bei Pferden. 97
Pesch, Karl, L., Ueber Natur und Bildung der Diphtheriepolkörnchen. 312
— —, Untersuchungen zur Einteilung der diphtheroiden Bakterien. 27
— —, u. **Schütt, Hans,** Eine Hühnertyphusepizootie. 414
Pfeiler, W., Einiges über filtrierbare Virusarten und das „Kulturvirus" der Maul- und Klauenseuche. 574
Prigge, Richard, Berichtigung. 585
— —, Ueber den Toxongehalt des Diphtheriegiftes. 39
Reiter, Hans, Beitrag zur Frage der Wiederinfektion bei experimenteller Kaninchensyphilis 534
Rosenzweig, Walter s. **Kabelík, J.**
Saul, E., Untersuchungen zur Aetiologie und Biologie der Tumoren. XXVI. Mitteilung. Beziehungen der Bakterien zu den Tumoren des Menschen, der Tiere und der Pflanzen. 73
Schilf, Friedrich, Erfahrungen mit dem Trockenkomplement „Pharmagans". 438
Schiller, Ignaz, Ueber „erzwungene" Antagonisten. II. Mitteilung. 124
Schlunk, Franz, Der Zweck der Katalase bei den Bakterien und ihre Bewertung als Ferment. 116
Scholz, W., Nachweis und Austitrierung antitoxischer Sera (insbesondere des Tetanusantitoxins) im Reagenzglas. 434
Schütt, Hans s **Pesch, Karl.**
Severtzoff, L. B., Method of counting, culture medium and pure cultures of soil Amoebae. 151
Stapp, C., Weitere Beiträge zur Kenntnis der Bakterienfermente. 161.
Strauss, Walter, Ueber die Verwendbarkeit des Peptonum sicc. Riedel für bakteriologische Zwecke. 142
Tomioka, Y., Bakteriologische und serologische Untersuchungen bei einer neuen Art von anaëroben Fäulnisbazillen. 321
— —, Experimenteller Beitrag zur Frage der Immunität bei Recurrens und ihrer Beeinflussung durch die Salvarsantherapie. 41
Toyoda, Hidezo, u. **Tsuru, Kunitake,** Weitere Untersuchungen zur Bakterizidiefestigkeit des Rotzbazillus. 64
— —, u. **Yung-nen Yang,** Zweite Mitteilung über die Bakterizidiefestigkeit des Tuberkelbazillus. 271
Trawiński, Alfred, Paratyphus B-ähnliche Bakterien in den Menschenfäzes. 356
Tsuru, Kunitake s. **Toyoda, Hidezo.**
Wassermann, August v., Zur Frage der Spaltbarkeit des syphilitischen Antigen-Serum-Aggregates. 370
Yonezawa, T., Einfluß der Revakzination auf die virulizide Kraft des Blutes beim vakzineimmunen Kaninchen. 131
Yung-nen Yang s. **Toyoda, Hidezo.**
Zandt, Ferdinand, Fischparasiten des Bodensees. 225
Zacharoff, A. s. **Barikin, W.**

II. Sachverzeichnis.

Agglutination der Bakterien in Zuckerlösungen. 443
Agglutination, physiologische, der Ruhr-Y-Bazillen. 363, 546
Agglutination der Ruhrbazillen durch Schwangerenserum. 363, 546
Amöben, Erd-, Kultur. 151
Anaërobe Bakterien, Kultur. 129, 159, 315
Anaërobe Bakterien, Kultur, aërobe. 580
Anaphylaxie, Metaballodispersttheorie. 277
Anaphylaxie, Studien über dieselbe. 428
Antagonisten, erzwungene, bei Bakterien. 124
Antikörper, virulicide, Verhalten bei Revakzination. 137
Antisera, präzipitierende, Haltbarkeit. 308
Antitoxisches Serum, Nachweis und Auswertung. 434

Augenentzündung, ägyptische, Ursache derselben. 371, 385
Bac. balnearius, Vorkommen in Wasser. 194
Bac. coli s. a. Coli.
Bac. coli, Eijkmansche Probe. 470
Bac. coli, Einfluß der Paratyphus B-Bazillen auf die Milchzuckervergärung. 20
Bac. coli, Stoffwechsel. 359
Bac. coli, Ursache der Pyelocystitis. 527
Bac. coli, Variabilität. 518
Bac. enteritidis Gärtner-Immunserum, Eignung zum Castellanischen Absättigungsversuch. 481
Bac. Koch-Weeks, Beziehungen zu den Influenzabazillen. 371, 385
Bac. putrificus, Artbestimmung. 342
Bact. gallinarum, Hühnertyphus, Ursache desselben. 414
Bakterien, anaërobe, Kultur. 129, 159, 315
Bakterien, anaërobe, Kultur, aërobe. 580
Bakterien, Antagonisten, erzwungene. 124
Bakterien, diphtheroide, Einteilung. 27
Bakterien, Ekto- und Endoplasma, Bedeutung derselben. 429
Bakterien, Fäulnis-, anaërobe. 321
Bakterien, Fermente. 161
Bakterien, Katalase, Vorkommen derselben. 116, 161
Bakterien, Kultur. 312
Bakterien, Peroxydase. 161
Bakterien der Typhus-Coli-Gruppe, Variabilität. 1
Bakteriophage s. d'Herellesches Phänomen.
Bakterizidie, Rolle des Ekto- und Endoplasmas der Bakterien bei derselben. 429
Bakterizidiefestigkeit der Rotzbazillen. 64
Bakterizidiefestigkeit der Tuberkelbazillen. 271
Balantidiencolitis und Typhus. 104
Balantidium coli, Biologie und pathogene Bedeutung. 104
Benzidin-Hydroperoxydreaktion, zum Nachweis von Peroxydasen. 189
Bindehautentzündung, Koch-Weeks. 371, 385
Blut, Färbung. 148
Blutprotozoen, Färbung. 148
Bodensee, Fischparasiten in demselben. 225
Castellanischer Absättigungsversuch, Eignung der Sera zu demselben. 481
Chloramin, Desinfektionswirkung. 465
Cholera, Epidemiologie. 201
Coli-Typhus-Erkrankungen der Haustiere. 397
Coli-Typhus-Gruppe, Unterscheidung der Bakterien durch Färbung. 197
Coli-Typhus-Gruppe, Variationserschein. 1
Culiciden, Beobachtungen. 101
Cystitis, durch Bac. coli verursacht. 527
Darm, Vorkommen von Paratyphus B-ähnlichen Bazillen. 356
Dermanyssus gallinae, Rolle bei der Geflügelspirochätose. 93
Desinfektion mit Chloramin. 465
Diphtheriebazillen, ähnliche, Einteilung. 27
Diphtheriebazillen, Polkörnchen, Natur u. Bildung derselben. 208
Diphtheriebazillen, Pseudo-, Einteilung. 27
Diphtheriegift, Toxingehalt. 39, 585
Eijkmansche Probe zum Nachweis von Bac. coli. 470
Einmachegläser zur Anaërobenzücht. 129
Endoplasma der Bakterien. 429
Ektoplasma der Bakterien. 429
Erdamöben, Kultur. 151
Farbstoffphänomen, Serum-. 572
Färbung der Bakterien der Typhus-Coli-Gruppe zur Unterscheidung. 197
Färbung des Blutes. 148
Färbung der Blutprotozoen. 148
Fäulnisbakterien, anaërobe, bakt. und serologische Untersuchungen. 321
Fäulnisbakterien, Artbestimmung. 342
Ferment, Bewertung der Katalase als solches. 116
Fermente bei Bakterien. 161
Fisch-Parasiten des Bodensees. 225
Fleckfieber, Weil-Felix-Reaktion. 532
Flockungsverfahren nach Ramón zur Auswertung von Tetanusserum. 434
Geflügelspirochätose, Vorkommen in Oesterreich. 84
Geschwülste, Aetiologie und Biologie. 73
Gift, Diphtherie-, Toxongehalt. 39, 585
Gonokokken, Nährboden, Bedeutung der Reaktion für denselben. 61
Haustiere, Coli-Typhus-Erkrankungen. 397
d'Herelle-Lysine, Flüchtigkeit und Kochbeständigkeit derselben. 424
d'Herellesches Phänomen. 424
Hühnerspirochätose, Vorkommen in Oesterreich. 84
Hühnertyphus, Epizootie. 414
Immunität bei Rückfallfieber. 41
Influenzabazillen, Beziehungen zum Bac. Koch-Weeks. 371, 385
Kaninchensyphilis, experimentelle, Reinfektion. 534
Katalase, Vorkommen bei Bakterien. 116, 161
Koch-Weeksscher Bazillus s. Bac. Koch-Weeks.
Komplement, Trocken-, Brauchbarkeit. 438
Kultur der Bakterien von Einzelkeimen aus. 312
Lyssa s. Wut.
Malaria, Uebertragung derelben, chronologischer Ueberblick. 392
Maul- und Klauenseuche, Kulturvirus. 574
Meningitis cerebrospinalis bei Pferden. 97
Metaballodispersttheorie d. Anaphylaxie. 277
Mikroskop, Plattenkultur-, binokulares. 475
Nährboden, Dimethyl-p-phenylendiamin-, für anaërobe Bakterien. 315
Nährböden für Gonokokken, Bedeutung der Reaktion. 61
Nährböden, Peptone, verschiedene Präparate, Brauchbarkeit derselben 143
Nährböden, Peptonum sicc. Riedel, Brauchbarkeit desselben. 142
Nährböden für Spirochaete pallida. 216
Oedem, malignes, Aetiologie und Prophylaxe. 418
Parasiten bei Fischen des Bodensees. 225

Paratyphus A-Erkrankungen, Bakter. 500
Paratyphus A-Erkrankungen, Klinik. 500
Paratyphus B-Baz., ähnl., Vorkommen. 356
Paratyphus B-Erkrankungen, Widalsche Reaktion bei denselben. 490
Paratyphusbazillen, Einfluß auf die Milchzuckervergärung durch Bac. coli. 20
Pepton, verschied. Präpar., Brauchbark. 143
Peptonum siccum Riedel, Brauchbark. 142
Peroxydase, Vorkommen bei Bakterien. 161
Pferde, Meningitis cerebrospinalis. 97
Phänomen, Serumfarbstoff-. 572
Phagozytose, Ekto- und Endoplasma der Bakterien, Rolle bei derselben. 429
Plattenkulturmikroskop, binokulares. 475
Pocken, Revakzination und Vakzination, Beeinflussung. 131
Pocken, virulicide Antikörper, Verhalten bei Revakzination. 137
Präzipitation, Antisera, Haltbark. ders. 308
Protozoen, Blut-, Färbung. 148
Protozoen, menschliche und tierische, Infektion mit denselben. 540
Pseudodiphtheriebazillen s. Diphtheriebazillen, Pseudo-.
Pseudoruhrbazillen s. Ruhrbazillen, Pseudo-
Pyelocystitis, durch Bac. coli verursacht. 527
Rauschbrand, Aetiologie u. Prophylaxe. 418
Recurrens s. Rückfallfieber.
Rotzbazillen, Bakterizidiefestigkeit. 64
Rückfallfieber, Immunität. 41
Rückfallfieber, Salvarsanbehandlung. 41
Ruhrbazillen, Pseudo-, Agglutination durch Schwangerenserum. 363, 546
Ruhr-Y-Bazillen, Agglutination, phys. 363
Säureagglutination, biologische. 443
Salvarsanbehandlung d. Rückfallfiebers. 41
Schutzimpfung gegen Typhus im Kriege, Nachwirkungen derselben. 9
Schwangerenserum, Agglutination von Ruhrbazillen durch dasselbe. 363, 546
Serum, antitox., Nachweis u. Auswert. 434
Serum, Schwangeren- s. Schwangerenserum.
Serumfarbstoffphänomene. 572
Simuliden, Beobachtungen. 101
Spirochaete pall., Nährböden z. Kultur. 216
Spirochätose, Geflügel-, Vorkommen in Oesterreich. 84
Stoffwechsel von Bac. coli. 359
Stoffwechsel von Typhusbazillen. 359
Syphilis, Antigen-Serum-Aggregat, Spaltbarkeit desselben. 370
Syphilis, Kaninchen-, experimentelle Reinfektion. 534
Syphilis, Spirochaete pall., Kult. ders. 216
Tabaniden, Beobachtungen. 101
Tetanusantitoxin, Nachweis u. Auswertung. 434
Toluidinblau-Eosin zur Färbung. 148
Toxin, Diphtherie-, Toxongehalt. 39, 585
Toxongehalt des Diphtheriegiftes. 39, 585
Trichocephalus trichiurus, Vorkommen in Rumänien. 542
Trockenkomplement „Pharmagans", Brauchbarkeit. 438
Tuberkelbazillen, Bakterizidiefestigkeit. 271
Tumoren s. Geschwülste.
Typhus und Balantidiencolitis. 104
Typhusbazillen, Stoffwechsel. 359
Typhus-Coli-Erkrankungen d. Haustiere. 397
Typhus-Coli-Gruppe, Unterscheidung der Bakterien durch Färbung. 197
Typhus-Coli-Gruppe, Variationserscheinungen. 1
Typhus, Hühner-, Epizootie. 414
Typhus-Immunserum, Eignung zum Castellanischen Absättigungsversuch. 481
Typhus-Schutzimpfung, Nachwirkung. 9
Ueberempfindlichkeit s. Anaphylaxie.
Vakzine, Antikörper, Verhalten bei Revakzination. 137
Vakzine, Einfluß der Revakzination. 131
Variabilität des Bac. coli. 518
Variation in der Typhus-Coli-Gruppe. 1
Virus, filtrierbares. 574
Wasser, Bac. balnearius, Vork. in dems. 194
Wasser, Eijkmansche Probe zum Nachweis von Bac. coli. 470
Wassermann-Reaktion, Aggregat, Spaltbarkeit desselben. 370
Weil-Felix-Reaktion, diagnostischer Wert derselben. 532
Widalsche Reaktion bei Paratyphus B-Erkrankungen. 490
Wut, Diagnose, zytologische. 71
Zitronensäurenährböden für Gonokokken. 61
Zuckerlösung, Agglutination der Bakterien in derselben. 443
Zuckervergärung, Milch-, durch Bac. coli. 20

III. Verzeichnis der Abbildungen.

Ancyrocephalus sp. n. sp. 234
Ancyrocephalus siluri n. sp. 233
Bac. Koch-Weeks, Kolonien. 376
Bakterien, Beziehungen derselben zu den Geschwülsten des Menschen. 78—83
Bakterien, Beziehungen derselben zu den Geschwülsten der Pflanzen. 74, 75
Bakterien, Beziehungen derselben zu den Geschwülsten der Tiere. 76, 77
Bakterienreinzüchtung, Apparat f. dies. 313
Balantidium coli, histolog. Befunde. 107, 108
Basanistes coregoni. 257
Chloromyxum sp. n. sp. 248
Chloromyxum fluviatile. 247
Chloromyxum incertum. 248
Dactylogyrus crucifer. 229
Dactylogyrus difformis. 228
Diplostomum sp. 241
Henneguya similis n. sp. 253, 254
d'Herellescher Bakteriophage, zur Frage der Flüchtigkeit und Kochbeständigkeit. 425, 426
Influenzabazillen, Klatschpräparate. 373
Katalase, Apparat zur quantitativen Prüfung derselben. 163
Myxobolus permagnus. 250
Paratyph. A-Baz., Kolonieformen. 510—513
Plattenkulturmikroskop, binokul. 476—479
Spirochätose, Geflügel- (Taf. I, II). 96
Spiroptera tenuissima. 246

Frommannsche Buchdruckerei (Hermann Pohle) in Jena — 5217

589.05
CE
Ref. 2a
92
7-8
Nat. Hist.
33

Centralblatt

für

Bakteriologie, Parasitenkunde und Infektionskrankheiten

Erste Abteilung: Medizinisch-hygienische Bakteriologie und tierische Parasitenkunde

Originale

THE LIBRARY
JAN 1925
UNIVERSITY OF ILLINOIS

In Verbindung mit

Prof. Dr. R. Abel, Geh. Obermed.-Rat, Jena
Prof. Dr. M. Braun, Geh. Reg.-Rat, Königsberg i. Pr.
Prof. Dr. R. Pfeiffer, Geh. Med.-Rat, Breslau,

herausgegeben von

Geh. Reg.-Rat Prof. Dr. O. Uhlworm, Bamberg, Kunigundendamm 61 II
Präsident Dr. A. Weber, Dresden-A. 21, Eisenacherstr. 26 II

und

Prof. Dr. E. Gildemeister, Ob.-Reg.-Rat, Berlin-Lichterfelde W, Victoriastr. 7

Verlag von Gustav Fischer in Jena

92. Band | Jena, 15. Oktober 1924 | Heft 7/8

— Jeder Band umfaßt 8 Hefte, die in zwangloser Folge erscheinen. —

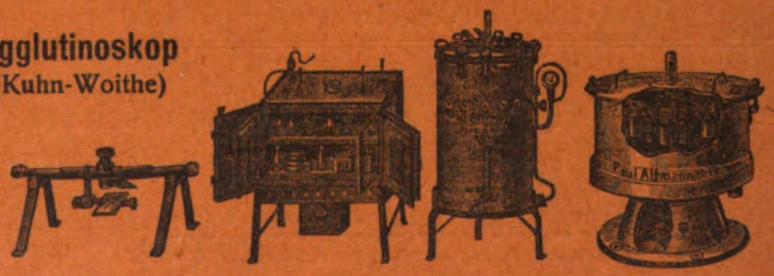
PAUL ALTMANN

Luisenstraße 47 Ecke Schumannstr. **BERLIN NW 6** Luisenstraße 47 Ecke Schumannstr.

Fabrik und Lager

aller Apparate und Utensilien für Chemie, Bakteriologie, Mikroskopie und Hygiene

Agglutinoskop (Kuhn-Woithe)



Autoklaven Brutschränke Sterilisatoren
Centrifugen Schüttelapparate
Serodiagnostische Apparate, Wasseruntersuchungsapparate
etc. etc. etc.

Vollständige Einrichtungen von Laboratorien

Telegr.-Adresse „Utensilien-Berlin"

— Neue Dunkelfeldlampen nach Falkenthal —

— Neues „Lampen-Agglutinoskop" nach Gildemeister-Herzberg —

ZEISS

Mikroskope

und mikroskopische Hilfsapparate für alle wissenschaftlichen Untersuchungen

* * *

Mikroskop mit Stativ ASA
für bakteriologische Zwecke
Preis: GM. 335.—

Kardioid-Ultramikroskop :: Lupen :: Blutkörperchen-Zählapparate :: Projektionsapparate :: Epidiaskope :: Beleuchtungseinrichtung für Operationssäle :: Polarisations-Apparate :: usw.

Druckschriften und Auskünfte kostenfrei von:

CARL ZEISS
JENA

Prof. Dr. E. Přibram's mikrobiologische Sammlung

vorm. Král's bakteriologisches Museum
Wien IX/2, Zimmermanngasse 3

(Abgabe von Bakterien, Hefen, Pilzen, Musealkulturen, mikroskopischen Präparaten von Mikroorganismen, Photogrammen, Diapositiven und Nährböden).

Verlag von Gustav Fischer in Jena

Soeben erschien:

Soziale Hygiene und Volkswirtschaft

Unter besonderer Berücksichtigung des Wohnungs- und Siedlungswesens

Von

Dr. med. Walter Weisbach

Privatdozent an der Universität Halle (Saale)

IV, 60 S. gr 8° 1924 Gmk 2.40

Meerschweinchen, Kaninchen, bunte Ratten, weiße Mäuse, Frösche

liefert jeden Posten

A. Seyer, Berlin N. 54, Ackerstraße 19

Export. — Import.

Neue
Nährbodenpräparate

in fester Form zur
einfachen und **billigen Bereitung** von

Bakteriennährböden

insbesondere für anspruchsvolle Keime
(Vergl. Kuczynski & Ferner, Klinische Wochenschrift, 1923, Nr. 18.)

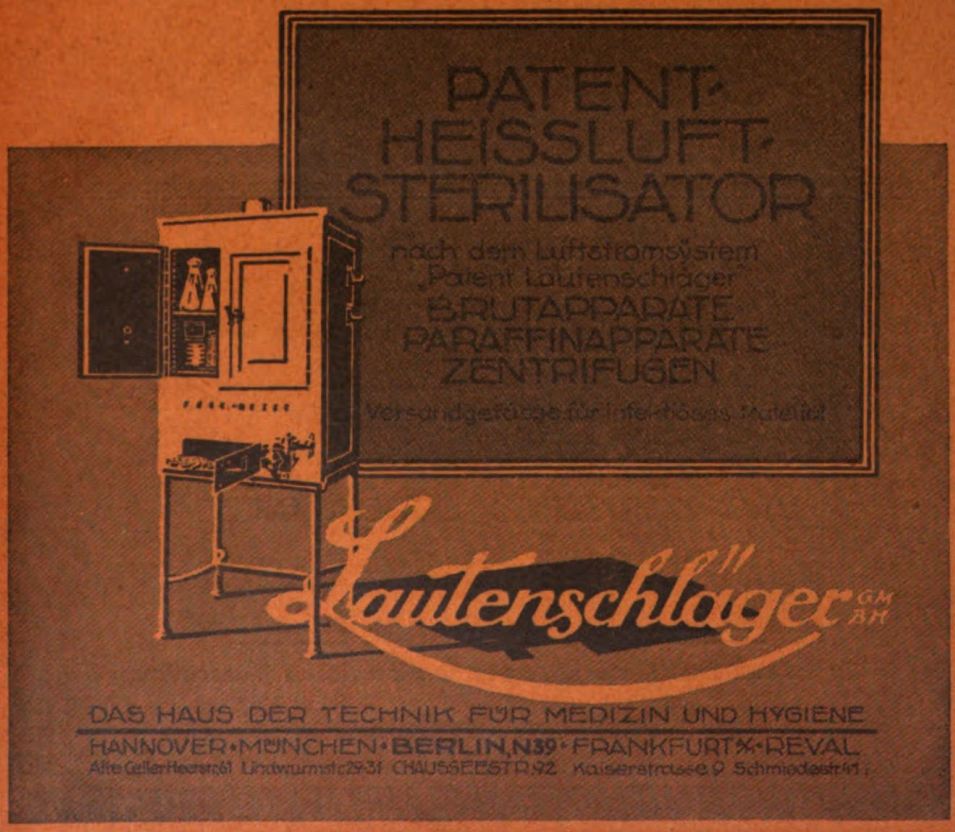
Standard I: Nähragar
Standard II: Nähragar
Standard I: Nährbouillon
Standard II: Nährbouillon

Fleischbrühersatz-Pulver

Packungen für je 1 Liter
Nährflüssigkeit
Großpackungen zu
500 g Nährbodenpulver

Ausführlicher Prospekt wird auf Wunsch übersandt.

E. Merck, Darmstadt.



Wichtig für bakteriolog.-hygien. Institute, Laboratorien etc.

Hermetisator

(Vergl. Centralblatt für Bakteriologie. I. Abt. Orig., Bd. 91, Heft 7/8, S. 558)

(Vakuumapparat zur Anaërobenzüchtung)

2 Deutsche Reichspatente :: 14 Auslandspatente

Apparate, mit Hilfe derer es möglich ist, **Substanzen, Nahrungsmittel, Hauskonserven usw. gegen Verschimmeln und Einflüsse der Luft zu schützen, den Speisen die Vitamine zu erhalten.**

Das Hermetisator-Verfahren ist wissenschaftlich und praktisch durchgebildet.

Der **Hermetisator** sollte in **keinem Laboratorium** und in keiner Küche **fehlen.**

Verlangen Sie kostenlos Prospekte.

Anhalter Metallwerke Winkler & Co.

Kommandit-Gesellschaft

Dessau 67

ERNST LEITZ

Berlin NW 6, Luisenstraße 45

Abteilung für

Laboratoriumsbedarf

Einrichtung und Ergänzung von mikroskopisch-bakteriologisch-chemischen und klinischen Laboratorien

Farbstoffe und Reagentien

Versandgefäße

für infektiöses Material, nach ministerieller Vorschrift

Präparatengläser

§ Diesem Hefte liegt ein Prospekt der Firma **Ernst Leitz, Berlin NW 6,** betr. **Organ-Extrakte** etc., bei.

Frommannsche Buchdruckerei (Hermann Pohle) in Jena.

UNIVERSITY OF ILLINOIS-URBANA
589.05CE C001
ZENTRALBLATT FUR BAKTERIOLOGIE, PARASI
92 1924
3 0112 009814945